

## EXPERIENTIA

JAN 9 '51



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES  
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT  
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE  
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:

A.v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE

Bern

Zürich

Genève

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG · BASEL 10

SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. VI. - Fasc. 11

15. XI. 1950

Fr. 2.50

## SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

J. EGGERT: Die wichtigsten Verfahren der Farbenphotographie . . . . .	401
S. RAFFEL: Chemical Factors Involved in the Induction of Infectious Allergy . . . . .	410

*Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports*

W. H. SCHOPFER et E. C. GROB: Recherches sur la biosynthèse des caroténoïdes chez un Microorganisme . . . . .	419
G. PONGOR: Die Aminosäure-Zusammensetzung der Kapselsubstanz der Milzbrandbazillen und der serologisch identischen spezifischen Substanz des <i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	421
J. TOMCSIK und C. A. SCHILD: Schädigung und sphärische Umwandlung der Erythrozyten bei der Hämagglutination . . . . .	422
Ü. MASKAR: Über die biologische Verwandtschaft zwischen Lania und Kamel . . . . .	423
P. E. LINDAHL und K. H. KIESSLING: Separation of Micromeres of the 16-Cell Stage of the Sea Urchin <i>Paracentrotus lividus</i> . . . . .	425
A. MOSCONA: Blastokinesis and Embryonic Development in a Phasmid . . . . .	425
MARGARETE KERZ: Wahrnehmung polarisierten Lichtes durch <i>Eupagurus</i> . . . . .	427
V. ERSPAMER und A. OTTOLENGHI: Antidiuretic Action of Enteramine . . . . .	428
HELENA KEILOVÁ-RODOVA: The Effect of Aureomycin on Tissue Cultures . . . . .	428
I. GRAY, PATRICIA ADAMS, and H. HAUPTMANN: The Utilization of the Branched Chain of Isobutyric Acid Studied with C <sup>14</sup> . . . . .	430
MARINA DE NICOLA: Azione dei raggi X sul metabolismo degli acidi nucleinici in cellule proliferative e cellule secretrici . . . . .	432
J. MULÈ e L. GARUFI: Azione di sostanze ad azione antistaminica sulla intossicazione sperimentale da Tirosina . . . . .	433
E. KELEMEN, M. MAJOROS, J. IVÁNYI, and K. KOVÁCS: Salicylates, Stress and Cortisone . . . . .	435

*Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews*

Gesammelte mathematische Abhandlungen, Bd. I. Von Ludwig Schläfli (Verlag Birkhäuser AG., Basel, 1950) (Ref. A. Ammann) . . . . .	436
Theorie und Lösungsmethoden des Mehrteilchenproblems der Wellenmechanik. Von P. Gombás (Verlag Birkhäuser AG., Basel, 1950) (Ref. W. Braunbek) . . . . .	436
Vibrations. Acoustique. Par Eugène Darmois (Edité par la Société d'édition d'enseignement supérieur, Paris, 1948) (Ref. H. Zickendraht) . . . . .	436
The Alkaloids ( <i>Chemistry and Physiology</i> ). By R. H. F. Manske and H. L. Holmes (Academic Press, New York, 1950) (Ref. E. Schlittler) . . . . .	437
Die Pilze. Von E. Gäumann (Verlag Birkhäuser AG., Basel, 1949) (Ref. W. Troll) . . . . .	437

*Informations - Informationen - Informazioni - Notes*

Studiorum progressus: R. GALAMBOS, W. A. ROSENBLITH, and M. R. ROSENZWEIG: Physiological Evidence for a Cochleo-Cochlear Pathway in the Cat . . . . .	438
---	-----



# EXPERIENTIA



L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications*;
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées*.

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienenener *Bücher*, durch Referate über *Kongresse und Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

## E X P E R .

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 2.50. Abonnement pour un an fr. 24.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 28.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.

Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant. Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à part. de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.

Prix pour les annonces:  $\frac{1}{4}$  page fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  page fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  page fr. 70.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.

L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhäuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15  
Tél. 498 00; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Portugal, Schweden und Tschechoslowakei nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.

Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 24.—, im Ausland sFr. 28.—; die Einzelnummer kostet Fr. 2.50.

Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d.h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.

Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5×21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Insertionspreise:  $\frac{1}{4}$  Seite Fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  Seite Fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  Seite Fr. 70.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.

Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15  
Tel. 498 00; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni*;
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports*;
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 2.50. L'abbonamento annuo è di fr. 24.— per la Svizzera; all'estero fr. 28.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.

La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.

Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5×21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.

Prezzi per annunci:  $\frac{1}{4}$  pag. fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  pag. fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  pag. fr. 70.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.

EXPERIENTIA si stampa in Svizzera.

Casa editrice Birkhäuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15  
Tel. 498 00; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15<sup>th</sup> of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 2.50, by annual subscription by inland-mail fr. 24.—; other countries fr. 28.—. Prices in Swiss currency. All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10<sup>th</sup> of the preceding month.

The authors receive, on request, 50 reprints 14,5×21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.

Prices for advertising:  $\frac{1}{4}$  page fr. 200.—,  $\frac{1}{2}$  page fr. 120.—,  $\frac{1}{4}$  page fr. 70.—. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15  
Phone 498 00; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

### Verzeichnis der Inserenten - Liste des annonceurs - List of Advertisers - Experientia VI/11

CIBA AG., Basel  
Kern & Co. AG., Aarau  
Karl Kirchner AG., Bern

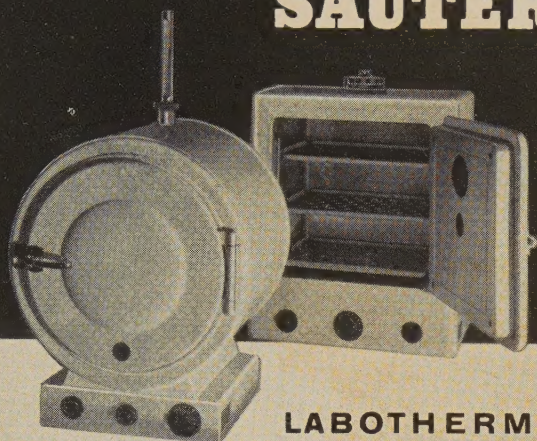
Sauter AG., Basel  
Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich  
Birkhäuser AG., Basel

Cilag AG., Schaffhausen  
Academic Press Inc., New York  
Salvis AG., Luzern

Steiner & Co., Basel



# SAUTER

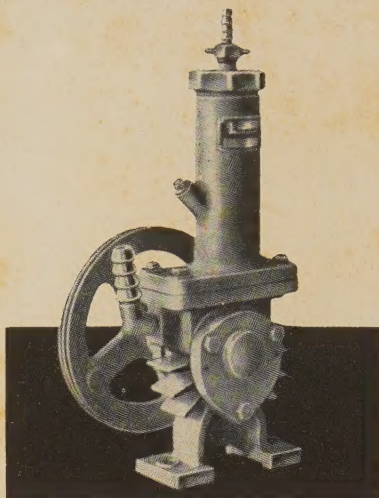


## LABOTHERM

Elektr. Wärmeschränke für Laboratorien

Prüfschränke für Farben und Lacke  
Härteprüfung von Kunststoffen  
Dichte - Feuchtigkeit - Säuregehalt-  
prüfungen, Vorwärmung u.s.w.  
Trockenschränke, Sterilisatoren  
Brut- und Labschränke, Vakuumschränke

FR. SAUTER A.G.,  
FABRIK ELEKTRISCHER APPARATE, BASEL



Neuer

## Labor-Kompressor und Vakuumpumpe

Überdruck: 2 atü Endvakuum: besser als 1 Torr

Verlangen Sie Offerte

**KARL KIRCHNER AG., BERN**

Freiestraße 12, Telefon (031) 245 97

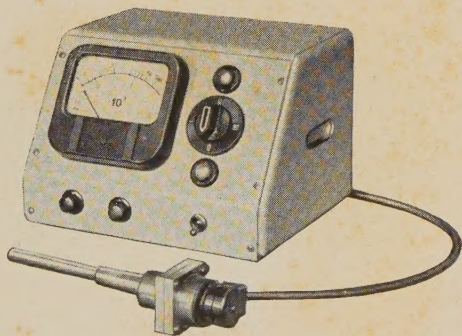
Gerätebau-Anstalt



Balzers (FL.)

## Vakuum-Messgeräte

kontinuierlich anzeigend zwischen  
10<sup>-5</sup> bis 1 mm Hg

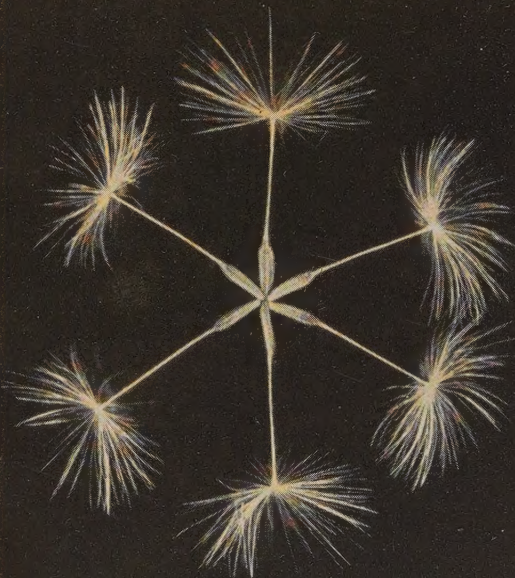


Vollkommen unempfindlich gegen Lufteinbrüche in  
eingeschaltetem Zustand. Einstellzeit max. 2 Sek.  
Eingebauter Umschalter für Anschluß von 4 Meß-  
zellen, Gerät auch als „Leak-detector“ verwendbar.

Verkaufsorganisation

**Trüb, Täuber & Co. AG. Zürich**

Fabrik elektr. Meßinstrumente und wissenschaftl. Apparate



*Plich's*  
**STEINER+CO**  
*Basel*  
Schützenmattstrasse 31  
Telephon 499 10 / 499 19



# Unsere Medikamente tragen die Marke



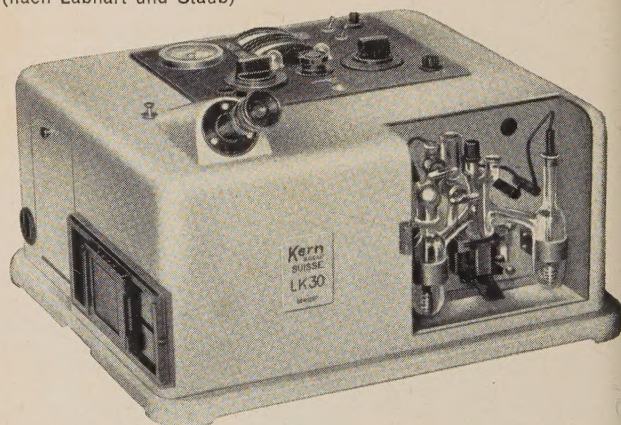
CILAG AKTIENGESELLSCHAFT / SCHAFFHAUSEN



**Elektrische Trocken- und Sterilisierschränke**  
**Bakterienbrutschränke**  
**Kleintiegel- und Muffelöfen**  
**Sand- und Wasserbäder**  
**Heizkalotten**  
**Wasserdestillierapparate**  
**Heizplatten und Heiztrichter**  
**Spezialapparate-Konstruktionen aller Art für Laboratorien**

## Mikro-Elektrophoreseapparat Kern LK 30

mit interferometrischer Ausmessung der Konzentrationsstufen  
(nach Labhart und Staub)



Benötigte Lösungsmenge 0,4 cm<sup>3</sup>. Genauigkeit ca. 2,5% bei 1%iger Lösung. Spiegelreflex-Kamera, automatische Bildnumerierung, kein Thermostat, sofortige Betriebsbereitschaft, Spezialzelle für Diffusionsversuche. Maße: 40 x 46 x 28 cm; Gewicht: 24 kg.  
 Anwendungen: Serum und Plasma, Rückenmarksliquor, Organ-Eiweiße, Fermente, Immunisierungsvorgänge, Chemie der Hochmolekularen usw. - Prospekt Med. 505/2 auf Verlangen.

**Kern & Co. AG., Aarau**

Werkstätten für Präzisions-Mechanik und Optik  
 Gegründet 1819 Telefon (064) 21112





## Die wichtigsten Verfahren der Farbenphotographie<sup>1,3</sup>

Von JOHN EGGERT<sup>2</sup>, Zürich

### Redaktionelle Vorbemerkung

Der nachfolgende Übersichtsaufsatz war ursprünglich mit farbigen Abbildungen geplant. Trotzdem haben wir uns zu einer einfarbigen Wiedergabe entschlossen. Bei den schematischen Abbildungen wurden zur Kennzeichnung anstelle der Farbtöne geeignete Schraffuren angebracht, die zwar weniger übersichtlich sind, jedoch ein hinreichendes Verständnis ermöglichen.

Mit der farbigen Darstellung der Gegenstände auf photographischem Wege hat man sich schon bald nach der Entdeckung der Photographie (1839) befaßt. Den einfachsten Weg fand der Schweizer Kupferstecher und Photograph J.B. ISENRING schon ein Jahr danach in St. Gallen, indem er seine Daguerrotypen nach sehr kunstfertigem Verfahren kolorierte. Man war sich aber klar darüber, daß eine zwangsläufige Farbenphotographie erst möglich ist, wenn es gelang, die ursprüngliche Blauempfindlichkeit der Silberhalogenide auf das ganze sichtbare Spektrum auszudehnen. Praktisch brauchbare Verfahren konnten also erst nach der Entdeckung der Sensibilisation durch H.W. VOGEL (1873) entstehen.

Das vom rein physikalischen Standpunkte aus am meisten einleuchtende Verfahren mußte bei der Lösung

<sup>1</sup> Nach zwei Vorträgen in den Naturforschenden Gesellschaften Schaffhausen (17. 12. 47) und Winterthur (20. 1. 50).

<sup>2</sup> Photographisches Institut der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

<sup>3</sup> Es wurde davon abgesehen, zu dieser kleinen Übersicht Originalarbeiten zu zitieren. Man findet Einzelheiten in:

H. BERGER, *Agiacolor* (Verlag W. Girardet, Wuppertal 1950).

L. P. CLERC, *Principes et applications de la correction par masques dans la photographie en noir et en couleurs*. Schweiz. Photo-Rundschau 13, 384 (1948).

J. S. FRIEDMAN, *History of Color Photography* (American Photographic Publishing Company, Boston, 1947).

G. HEYMER, *Die neuere Entwicklung der Farbenphotographie*, in: *Handbuch der wissenschaftlichen und angewandten Photographie* (A. HAY), Ergänzungswerk, S. 337-463. Springer-Verlag, Wien 1943.

H. LUMMERZHEIM, *Farbenphotographie* (Verlag für Radio-Foto-Kinotechnik GmbH., Berlin-Bersigwalde 1950).

C. E. K. MEES, *Moderne Farbenphotographie*, Endeavour 7, 131 (1948).

K. MEYER, *Die farbenphotographischen subtraktiven Mehrschichtenverfahren* (Fortschritte der Photographie 2, 367, Akad. Verlagsgesellschaft, Leipzig 1940).

T. H. MILLER, *Masking: A Technique for improving the Quality of Color Reproductions*. J. Soc. Mot. Pict. Eng. 52[2], 133 (1949).

J. ROBINS und L. E. VARDEN, *Photoelectric Controls for Color Printing*, Electronics (June 1946).

W. SCHNEIDER und R. SPERLING, *Die farbenphotographischen subtraktiven Mehrschichtenverfahren* (Fortschritte Photographie 3, 180, Akad. Verlagsgesellschaft, Leipzig 1944).

D. A. SPENCER, *Colour Photography in Practise*. 3rd Edit. (Henry Greenwood and Co. Ltd., London, 1948).

des Problems folgendermaßen vorgehen: Das z. B. auf der Mattscheibe aufgefangene Bild ist zunächst (etwa wie bei der Fernsehabtastung) in möglichst viele Elemente zu trennen, darauf jedes einzelne Bildelement spektral zu zerlegen und die Anteile der in jedem Lichtpunkt enthaltenen spektralreinen Lichter quantitativ zu registrieren. Zum Aufbau des wiedergegebenen Bildes ist nach jenen Angaben aus einer gegebenen Lichtquelle, wiederum auf spektralem Wege, jeder einzelne Bildpunkt nach Lage und spektraler Zusammensetzung genau zu synthetisieren.

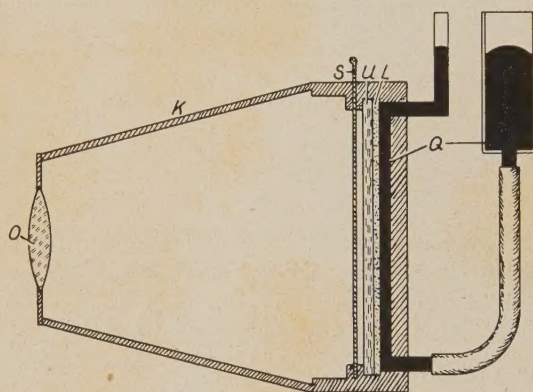


Abb. 1. Schematische Darstellung des farbenphotographischen «Interferenzverfahrens» von G. LIPPMANN (1891). O = Objektiv; K = Kamera; S = Kassettenschieber; L = Lippmannschicht; U = Unterlage; Q = Quecksilber.

Diese Möglichkeit des Vorgehens klingt in ihrer Kompliziertheit undurchführbar. Und doch hat G. LIPPMANN, Paris (1891) eine äußerst elegante Methode dieser Art gefunden, für die er 1908 mit dem Nobelpreis für Physik ausgezeichnet wurde. Er benutzte für sein Verfahren eine höchst feinkörnige, also sehr unempfindliche Schicht, die panchromatisch sensibilisiert war. Auf diese Schicht wurde das aufzunehmende Objekt in einer normalen Kamera projiziert, jedoch so, daß das Licht von der durchsichtigen Unterlage her auf die Rückseite der Schicht fiel. Die Kassette, in der die Platte lag, war nun so gebaut, daß die freie, vom Kameraobjektiv abgewandte Schichtoberfläche in innigen Kontakt mit einer spiegelblanken Quecksilberoberfläche gebracht werden konnte (Abb. 1). Da die lichtempfindliche Schicht wegen der ungewöhnlich kleinen Korngröße sehr durchsichtig ist (etwa wie eine ganz schwach getrübe Gelscheibe), dringt der größte



Teil des Lichtes durch die Schicht hindurch, fällt auf den Quecksilberspiegel, wird von dort reflektiert und läuft bei (ungefähr) senkrechtem Einfall den gleichen Weg zurück. Hierbei kommt es in der 20–30  $\mu$  dicken Schicht zu stehenden Wellen, die man dadurch nachweisen kann, daß man einen Dünnschnitt von der spektralrein belichteten und entwickelten Schicht senkrecht zu ihrer Oberfläche mikroskopisch betrach-



Abb. 2. Mikroaufnahme eines Dünnschnittes senkrecht zur Oberfläche einer Lippmannschicht, die mit spektralreinem rotem Licht belichtet und anschließend entwickelt wurde.

tet (Abb. 2). Man erkennt eine Ablagerung von Silber in äquidistanten Lamellen, das jeweils an den Stellen entstanden ist, an denen sich die maximalen Amplituden der stehenden Lichtwellen bei der Exposition befanden. Betrachtet man eine solche Aufnahme im durchfallenden Licht, so hat man in der Regel nur den Eindruck eines bräunlichen Negativs, während bei geeigneter Aufsichtsbetrachtung in weißem Licht die verschiedenen Farben sehr deutlich sichtbar werden, weil durch die Wirkung jener Lamellen aus dem weißen Licht alle Lichter durch Interferenz ausgelöscht werden, bis auf diejenigen, durch deren stehende Wellen die Lamellen entstanden waren. Eigenartigerweise werden so auch sehr komplizierte Lichtmischungen sehr naturgetreu wiedergegeben – nur hat das interessante Verfahren so viele praktische Nachteile, daß es lediglich eine Zeitlang als Laboratoriumsmethode bearbeitet wurde. Die Praxis geht daher den von J.C. MAXWELL 1857 auf Grund der Gesetze der Farbwahrnehmung durch das menschliche Auge (YOUNG, HELMHOLTZ, GRASSMANN) vorgeschlagenen Weg, die Zerlegung und den Wiederaufbau der Bildelemente nicht rein spektral, sondern nach den drei Dritteln des sichtbaren Gesamtspektrums: Rot (etwa 700 bis 600  $m\mu$ ), Grün (etwa 600 bis 500  $m\mu$ ) und Blau (etwa 500 bis 400  $m\mu$ ) vorzunehmen. Fast alle sich aus diesem Prinzip ergebenden Wege hat DUCOS DU HAURON seit 1869 gezeigt. Die klarsten und übersichtlichsten sind diejenigen beiden, bei denen die Bildherstellung in einem Zuge geschieht.

Beim ersten, dem Rasterverfahren, entsteht das Farbbild durch *additive* Mischung von Lichtern. Zum

Verständnis dieser Methode betrachten wir eine ältere additive Anordnung, die in Abb. 3 schematisch dargestellt ist. Im oberen Teil ist ein farbiges Original

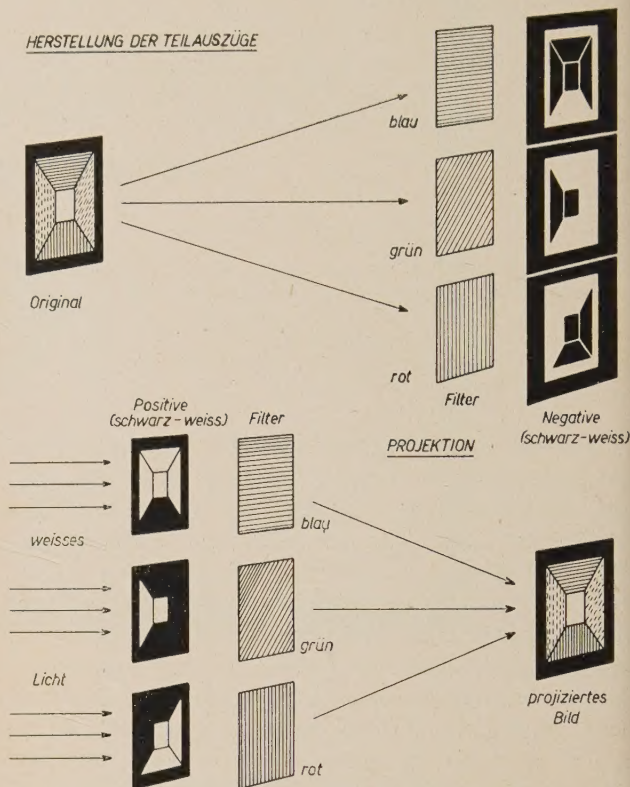


Abb. 3. Schematische Darstellung des additiven Farbenverfahrens. Oben: Herstellung der Teilnegative hinter den Trennfiltern Rot, Grün und Blau. Unten: Additive Synthese des Schirmbildes durch Übereinanderprojektion der Teilpositive hinter den zugehörigen Farbfiltern. (Seitenverkehrung durch die optischen Strahlengänge nicht berücksichtigt.)

dreimal hinter Filtern photographiert zu denken, die die oben genannten Spektralgebiete Rot, Grün und Blau hindurchlassen. Dabei entstehen drei kontur-

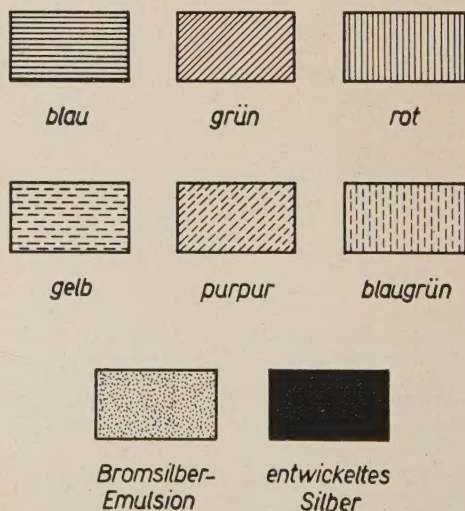


Abb. 4. Kennzeichnung der verschiedenen, im vorliegenden Aufsatz verwendeten Farbfelder.



gleiche, aber je nach den Originalfarben verschieden gedeckte Schwarz-Weiß-Negative. Stellt man von ihnen transparente Positivkopien her, bedeckt sie mit den entsprechenden Aufnahmefiltern und projiziert man die drei Kombinationen mit weißem Licht so, daß sie auf dem Schirm genau zur Deckung kommen, so entsteht durch die Mischung der Lichter Rot, Grün und Blau in den verschiedensten Intensitäten ein farb-

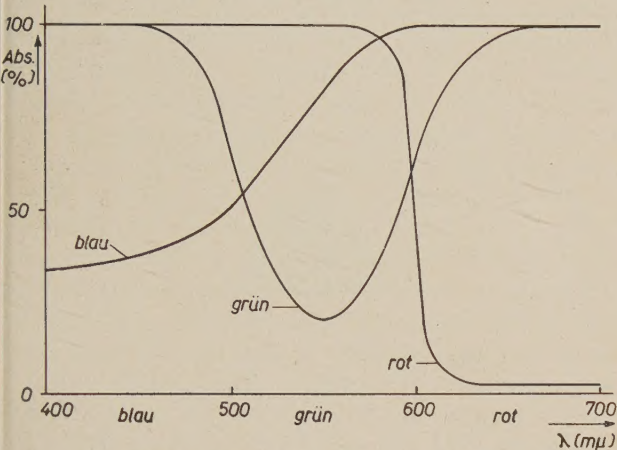


Abb. 5. Die Absorptionskurven der beim additiven Verfahren verwendeten Farbstoffe (schematisch).

treues Bild des Originals (Abb. 3 unten); diesen Weg bezeichnet man als *additive* Synthese. (In Abb. 4 sind die Kennzeichen zusammengestellt, die für die Farbdarstellungen in den Abb. 3 bis 13 benötigt werden.)

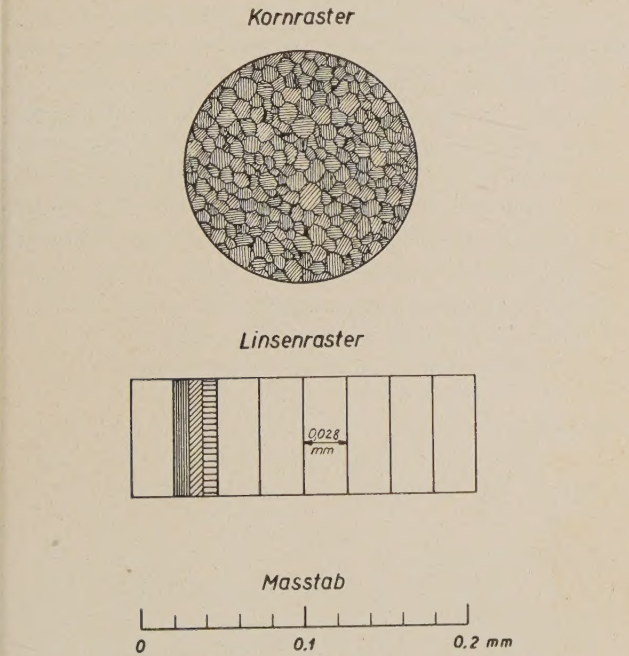


Abb. 6. Aussehen eines Kornrasters (oben) und eines Linsenrasters (unten) vergrößert, schematisch, nebst Maßstab.

In Abb. 5 sind die Absorptionskurven der Filterfarbstoffe wiedergegeben, die bei additiven Farbverfahren Verwendung finden. Man sieht an diesen der Praxis etwa entsprechenden Kurven, daß rote Farb-

stoffe der Forderung, ein Drittel des Spektrums durchzulassen und den Rest zu verschlucken, am nächsten kommen. Für die Grünfilter läßt sich diese Forderung schon schlechter erfüllen, da hier schon Absorption eintritt, wo völlige Durchlässigkeit stattfinden sollte; auch sind die Flanken der Kurven nicht von der wünschenswerten Steilheit. Beim Blau sind die gleichen Fehler noch erheblich vermehrt.

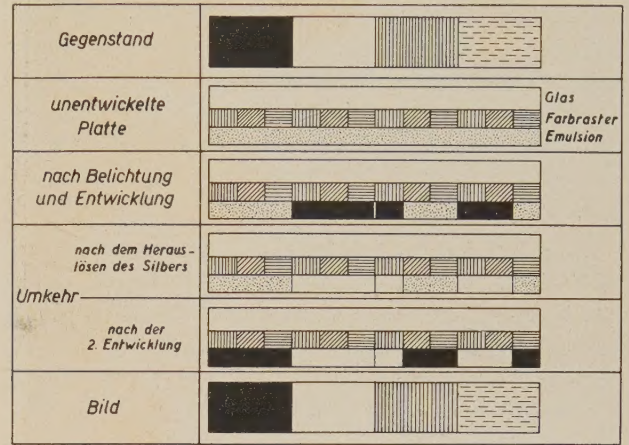


Abb. 7. Arbeitsweise des Farbrasterverfahrens.

Ohne optische Hilfsmittel findet diese additive Lichtmischung psychologisch statt, wenn die Aufnahme- und Wiedergabefilter in ein Mosaik von winzigen Einzelteilchen aufgelöst werden, so daß das unbewaffnete Auge diese Elemente nicht mehr voneinander unterscheiden kann (Abb. 6). Die Arbeitsweise nach dieser Methode ist folgende (Abb. 7). Bei der Be-

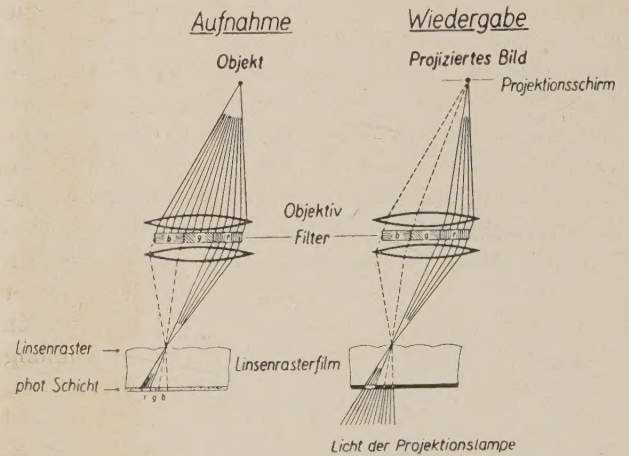


Abb. 8. Schematische Darstellung der Wirkungsweise des Linsenrasterverfahrens (links: Aufnahme; rechts: Projektion), das sich eines Schwarz-Weiß-Bildes bedient und die Färbung desselben auf optischem Wege additiv bewirkt. Linsen zum Objektiv gerichtet; Darstellung der Aufnahme und Wiedergabe für Rot. Verarbeitung der Schicht wie Abb. 7.

lichtung ist die Unterlage dem Objektiv zugewendet, so daß das Licht zunächst das Filtermosaik passieren muß, ehe es auf die dahinter liegende (mit dem Raster untrennbar verbundene) panchromatische photogra-



phische Schicht fällt. Die entwickelte Schicht wird nicht fixiert, sondern einer «Umkehrbehandlung» unterworfen, bei der das soeben entwickelte Silber wieder gelöst wird. Sodann wird der stehengebliebene Rest der lichtempfindlichen Schicht in hellem Licht entwickelt, so daß dadurch ein positives Bild entsteht. Es ist aber auch farbrichtig, denn das Licht eines z. B. rot gefärbten Objektes gelangte bei der Aufnahme nur durch die rot gefärbten Rasterteile, so daß die dahinter liegende Schichtstelle bei der ersten Entwicklung geschwärzt und durch den Umkehrvorgang wieder durchsichtig wurde, während die Schicht hinter den grünen und blauen Rasterteilen zum Schluß geschwärzt ist und diese verschließt. Vor einer weißen Lichtquelle erscheint jene Bildstelle somit wie das Objekt rot gefärbt.

Ohne auf die Methode näher einzugehen, werfen wir noch einen Blick auf das Linsenrasterverfahren, das an Stelle des Filtermosaiks geprägte Linsen auf der Rückseite des Schichtträgers verwendet und bei dem das Objektiv bei Aufnahme und Projektion mit einem dreifarbigem Streifenfilter ausgestattet ist (Abb. 8). Allen Rasterverfahren ist der Nachteil gemeinsam, daß sie sehr lichtschwach sind, was sich besonders bei der Wiedergabe der Bilder auf dem Wege der Projektion störend bemerkbar macht.

Das andere Verfahren, bei dem die Bilderherstellung in einem Zuge geschieht, ist das Farbstoff-Ausbleichverfahren. Diese Methode würde zwar ähnlich elegant arbeiten wie das Farbrasterverfahren, konnte aber bisher trotz vieler Versuche noch niemals zu der erforderlichen Vollendung gebracht werden, die für die praktische Verwendung nötig ist. Wegen ihrer prinzipiellen Bedeutung ist uns die Farbstoff-Ausbleichmethode aber wichtig. Auch sie arbeitet mit drei Farbstoffen, die den genannten drei Dritteln des sichtbaren Spektrums verwandt sind. Während aber die Spektralgebiete Rot, Grün und Blau von den bei den Rasterverfahren benutzten Farbstoffen *durchgelassen* werden, werden diese Gebiete von der neuen Dreiergruppe von Farbstoffen *absorbiert*. Die drei Farbstoffe

führen die Bezeichnungen: Blaugrün, Purpur und Gelb. Während bei den Filtern Rot, Grün und Blau eine Überdeckung dazu führt, daß überhaupt kein Licht mehr passieren kann, lassen sich mit den neuen Farbfilttern «subtraktiv» die alten Farbwerte erzeugen: Überdecken der Filter oder Vermischen der Farbstoffe Blaugrün und Purpur liefert subtraktiv Blau, weil nur das blaue Licht von beiden Farbstoffen durchgelassen wird; entsprechend liefert Überdecken oder Vermischen von Purpur und Gelb subtraktiv Rot; Überdecken von Gelb und Blaugrün liefert subtraktiv Grün. Erst das Überdecken aller drei Filter läßt gar kein Licht mehr hindurchtreten (= Schwarz!). Die vorstehend beschriebenen Schritte lassen sich leicht an Abb. 9 verfolgen, wobei die drei Kreise als angefärbte Filterscheiben zu denken sind, die sich teilweise gegenseitig überdecken. Die in der Praxis verwendeten Farbstoffe zeigen (schematisiert) die in Abb. 10 wiedergegebenen Absorptionskurven. Wie bei den in Abb. 5 dargestellten Farbstoffen sind die Forderungen nur angenähert erfüllt: Gelb arbeitet mit der steilen Flanke seiner Kurve am besten, schlechter die Purpurfarbstoffe, die zuviel im Blau absorbieren, und am wenigsten geeignet verhalten sich die blaugrünen Farbstoffe, die in ihrem Durchlässigkeitsgebiet vergleichsweise am meisten von den drei Farbstoffen absorbieren.

Man erkennt die innere Verwandtschaft der drei «komplementären» Farbgruppen: 1. Rot/Blaugrün; 2. Grün/Purpur; 3. Blau/Gelb, die man auch Kompen-sationsfarben nennt, da sie sich gegenseitig ergänzen, aus untenstehender Zusammenstellung.

Denkt man sich nun eine solche Farbstoffgruppe: Blaugrün, Purpur und Gelb in Gelatinelösung gemischt und auf einer Unterlage aufgetrocknet, so erscheint die Schicht schwarz, weil jeder der drei Farbstoffe ein Drittel des Spektrums absorbiert. Macht man nun noch weiter die Annahme, daß das jeweils absorbierte Licht zur Zerstörung des zugehörigen Farbstoffes, also zu seinem Ausbleichen führt, so ist zunächst einleuchtend, daß weißes Licht die anfangs schwarze Schicht

Farbstoffe, verwendet für		
additive	Farbverfahren	subtraktive
1. Rot . . . . .	Blaugrün	} Kompensationsfarben
2. Grün . . . . .	Purpur	
3. Blau . . . . .	Gelb	
<div> «Additive» <i>Licht</i>mischung (wie bei Abb. 3) <div> Rot + Grün = Gelb Grün + Blau = Blaugrün Blau + Rot = Purpur Rot + Grün + Blau = Weiß </div> </div> <div> «Subtraktive» <i>Farbstoff</i>mischung (Abb. 9) <div> oder Überdecken von Blaugrün und Purpur liefert Blau Purpur und Gelb liefert Rot Gelb und Blaugrün liefert Grün Blaugrün und Purpur und Gelb liefert S </div> </div>		



mit der Zeit zu farblos – also weiß ausbleicht. Was ereignet sich aber, wenn nur rotes Licht auf jene schwarze Schicht auftrifft? Rotes Licht kann nur den Farbstoff zerstören, der rotes Licht absorbiert; das ist Blaugrün. Es bleiben also Gelb und Purpur übrig, und diese er-

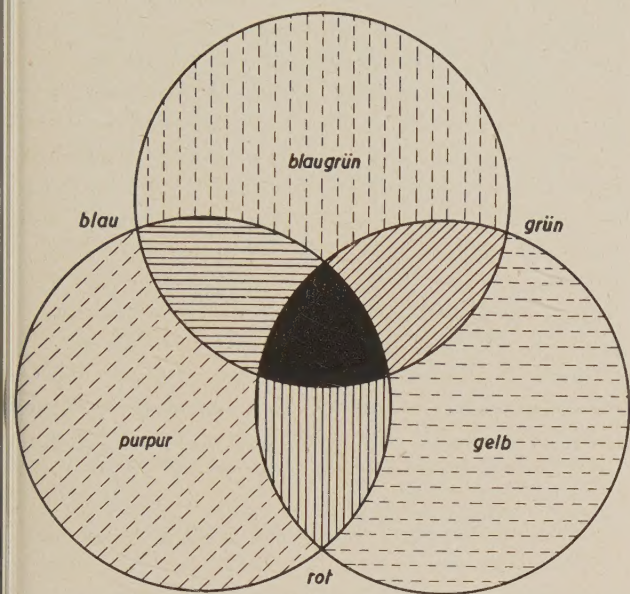


Abb. 9. Kreisförmige Farbfilter, sich teilweise überdeckend, in den drei Grundfarben Blaugrün, Purpur und Gelb. Bei zweifacher Überdeckung entstehen subtraktiv die Farben der Filter in Abb. 3.

geben nach obiger Übersicht Rot, also gerade den Farbwert, der aufgestrahlt wurde. Man würde somit eine solche schwarze Schicht nur in der Kamera zu exponieren brauchen, um ihr ohne weitere Entwicklung das völlig farb-, licht- und schattenrichtige (allerdings seitenverkehrte) Bild zu entnehmen. Die Versuche, diese verblüffend einfache Methode in die Praxis umzusetzen, sind an der Unempfindlichkeit organischer Farbstoffe beim Ausbleichen, an der verschiedenen Ausbleichgeschwindigkeit und an der Schwierigkeit gescheitert, das fertige Bild «lichtecht» zu fixieren. Um das Jahr 1907 wurde in Zürich, später in Paris, unter der Bezeichnung «Utocolorpapier» ein solches Material durch J. H. SMITH und W. MERKENS in den Handel gebracht, konnte aber aus den genannten Gründen auf die Dauer nicht bestehen. Man mußte sich also zu einer Trennung der Aufnahme- und Wiedergabeverfahren entschließen.

Tatsächlich hat, wie wir wissen, diese Trennung zu vollem Erfolge geführt; denn täglich sehen wir in Illustrationsbuntdrucken Papierbilder, und jederzeit können wir in den Kineothekern nach der Technicolor-Methode Farbfilme ansehen, die beide (theoretisch wenigstens) ebensogut nach dem soeben geschilderten Farbstoff-Ausbleichverfahren entstanden sein könnten.

Welche Schritte werden also in allergrößtem Maßstabe getan, um den praktisch so schwer durchführbaren Farbstoff-Ausbleichvorgang auf Umwegen mit

Hilfe der Photographie zu verwirklichen? Durch die drei spektral getrennten Absorptionsgebiete in den drei Farbstoffen wird offenbar zunächst das wiederzugebende Objekt darauf untersucht, wo und wieviel rotes, blaues und grünes Licht es an seinen Bildelementen aussendet. Das läßt sich, wie schon Abb. 3 lehrte, photographisch durch die Herstellung der drei Teilnegative oder «Auszüge» hinter den drei Filtern Rot, Grün und Blau erreichen. Es besteht nun die Aufgabe, die verschiedenen Schwärzungen der Auszüge an den einzelnen Bildteilen dazu zu benutzen, um mit Hilfe der drei subtraktiven Farbstoffe Gelb, Purpur und Blaugrün das ganze Bild aufzubauen, wie es beim Farbstoff-Ausbleichverfahren geschah. Hierzu stellt man von den drei Auszugs-Negativen Positive her und führt deren Silberbilder in Farbstoffbilder über, wobei man darauf achtet, daß der Bildfarbstoff, z.B. Purpur, und die Farbe des Aufnahmefilters der zugehörigen Negativschicht, Grün, Kompressionsfarben sind. Im Sinne des früheren Beispiels liefert also ein rot gefärbter Gegenstand auf dem Negativ hinter Rotfilter (dem Rotauszug) eine kräftige Schwärzung, während das rote Licht auf den beiden anderen Auszügen keine Schwärzung erzeugt, weil das rote Licht vom Grün- und Blaufilter absorbiert wird. Auf dem Positiv vom Rotauszug entsteht somit an jener Bildstelle kein Silber, während die Positive vom Grün- und Blauauszug dort beide geschwärzt sind. Beim Übergang zu den Farbstoffbildern werden also nur die beiden letzten Positive verwandelt und in Purpur und Gelb übergeführt, deren Überdeckung Rot liefert, wie es verlangt war.

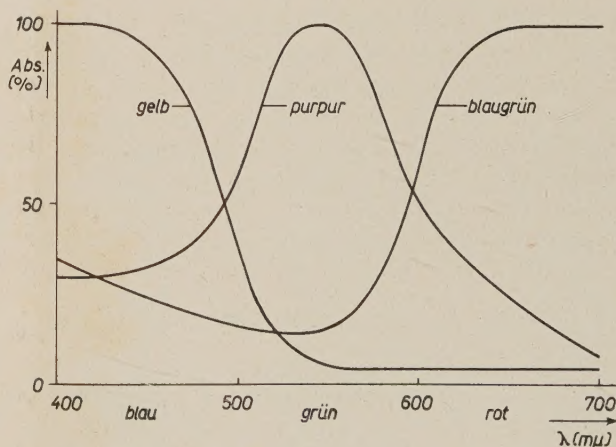


Abb. 10. Die Absorptionskurven der beim subtraktiven Verfahren verwendeten Farbstoffe (schematisch).

Beim Illustrationsbuntdruck werden von den drei Auszügen Clichés hergestellt, mit denen man das Bild in den drei Farben Gelb, Purpur und Blaugrün paßrichtig übereinanderdruckt. Ähnlich wird das Technicolor-Verfahren für Kinofilm (Abb. 11 und 12) durchgeführt. Diese technischen Prozesse arbeiten jedoch für den normalen photographischen Bedarf zu kompli-



ziert, wenn auch der Kodak-Dye-Transfer-Prozeß sowie das Duxochromverfahren grundsätzlich ähnliche Wege gehen und vielfach Verwendung finden. Man war daher bestrebt, die Methode noch weiter an den

maler Entwicklung dieses «integralen Dreipacks» bleibt in jeder Schicht (wenn sie nicht fixiert wird!) ein Rest an Silberbromid zurück, der, wenn er in der obersten Schicht in einen gelben, in der mittleren in

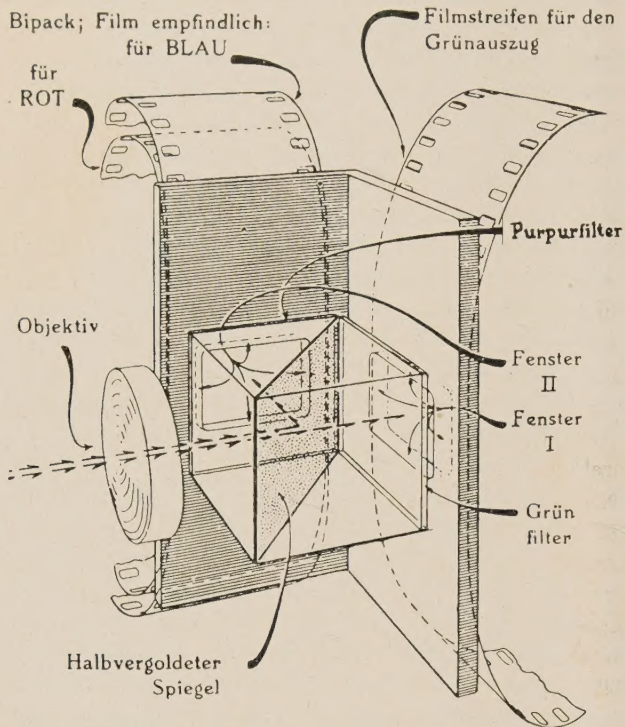


Abb. 11. Aufnahmegerät des Technicolor-Verfahrens. Das Licht wird innerhalb der Kamera geteilt in ein Bild, das hinter Grünfilter auf einem Einzelfilm aufgenommen wird (rechts), während der Rest auf einem «Zweipack»-Film registriert wird; Vorderfilm: Blau-Auszug; Rückfilm: Rot-Auszug.

Farbstoff-Ausbleichprozeß anzunähern. Die ideale Arbeitsweise wäre die folgende: Die empfindliche Schicht besteht aus drei übereinandergelagerten Teilschichten, von denen die oberste nur blau-, die mittlere nur grün- und die unterste nur rot empfindlich ist. Bei Belichtung mit farbiger Strahlung wird somit – ohne Verwendung von Filtern – in jeder dieser Schichten das latente Bild eines Teilauszuges erzeugt. Nach nor-

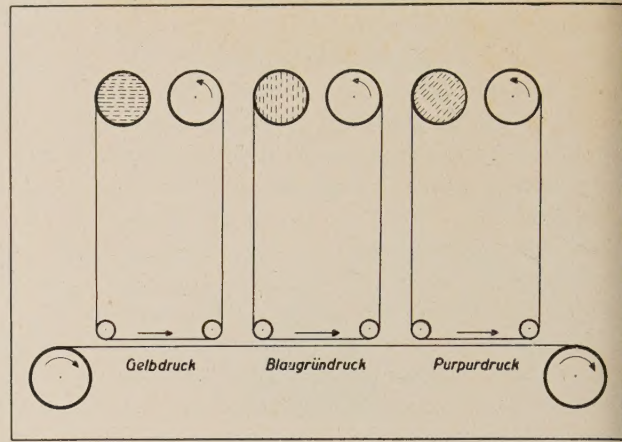
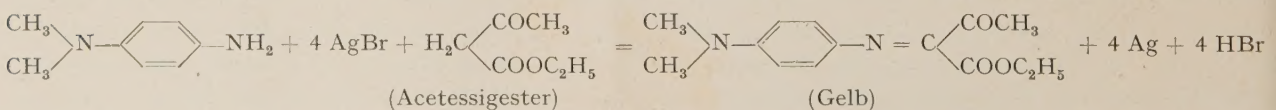
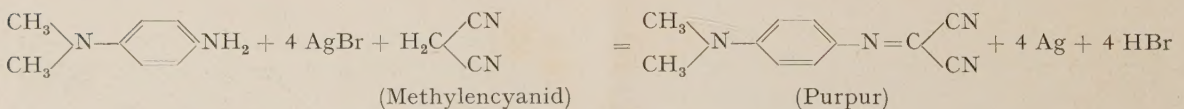
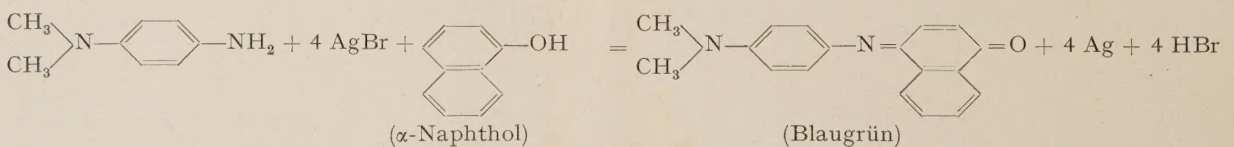
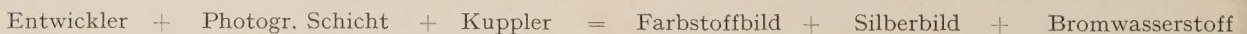


Abb. 12. Von diesen drei Negativfilmen werden drei (positive) «Druckfilme» hergestellt, mit denen der endgültige Spielfilm in den drei Farben Gelb, Purpur und Blaugrün wie mit Gummistempeln auf einen «Blankfilm» gedruckt wird, dessen Unterlage nur eine klare Gelatineschicht trägt. (Die Tonspur besteht aus einem Silberbild.)

einen purpurnen und in der untersten in einen blaugrünen Farbstoff verwandelt würde, nach Entfernung des zuerst entstandenen Silbers das farbrichtige Bild ergäbe. Dieser idealen Arbeitsweise ist man seit knapp 15 Jahren sehr nahe gekommen, indem man sich der Beobachtung bediente, daß manche Entwickler (nämlich die der *p*-Phenylendiamin-Klasse) neben dem Reduktionsprozeß, der das Silberbild ergibt, auch noch Farbstoffbilder liefern. Die zuerst beobachteten Farbstoffbilder waren zwar unansehnlich braun; bei Zugabe bestimmter organischer Substanzen zum Entwickler, die man Kuppler nennt, lernte man jedoch, als gefärbte Nebenbilder wahlweise solche in blaugrüner, purpurner oder gelber Farbe entstehen zu lassen (R. FISCHER, 1911).

Die Eastman Kodak Company benützt diese drei Prozesse, freilich mit wesentlich verbesserten Kupplern,





in farbige Umkehrbilder (unter anderem) auf folgendem Wege herzustellen. Der Aufnahme­film besteht aus vier übereinandergelagerten Schichten: 1. zuoberst eine blauempfindliche, darunter 2. eine Gelbfilter­schicht, die nur noch grünes und rotes Licht hindurch­läßt, 3. eine grün- und 4. eine rotsensibilisierte Schicht. Nach der Belichtung werden im gleichen Bade die drei in den selektiv empfindlichen Schichten entstandenen Auszüge als untrennbare Negative schwarz-weiß ent­wickelt. Sodann wird die vierte Schicht durch die Unterlage hindurch mit rotem Licht belichtet und an­schließend das restliche Silberbromid in Gegenwart einer Blaugrünpigmente «farbentwickelt». Darauf wird die erste Schicht von oben mit blauem Licht be­strahlt und gelb entwickelt und endlich die mittlere Schicht von beiden Seiten mit grünem Licht belichtet und purpur entwickelt. Zum Schluß wird in einem Ausbleichbade das gesamte Silber zusammen mit dem Gelbfilter entfernt, das ebenfalls aus (kolloidem) Silber besteht, so daß lediglich die drei Farbteilbilder übrigbleiben, die subtraktiv das bunte Gesamtbild ergeben.

Die Agfa hat diese zahlreichen Teilvorgänge in einen einzigen zusammengezogen, indem sie die nötigen Kuppler zur Bildung der Farbstoffe, die bei dem so­ben berichteten Verfahren noch in drei *getrennten* Bä­dern verwendet wurden, gleich in die drei Teilschichten (in jede den entsprechenden) hineinbrachte, um bei der Farbentwicklung mit einem einzigen Bade aus­kommen zu können. Das zu lösende Problem bestand darin, durch geeignete Maßnahmen zu verhindern, daß

die Kuppler während der Naßbehandlung durch Diffu­sion in benachbarte Teilschichten einwandern, was zu starken Farbverfälschungen führen würde. Die Lösung dieser Aufgabe gelang mit Hilfe des Kunstgriffes, daß man als kuppelnde Komponenten zunächst Stoffe ver­wendete, die zur Gelatine substantiven Charakter zeigten. Dann führte man in die Kupplermoleküle langkettige aliphatische Radikale ein, die der entste­henden Verbindung den erforderlichen Grad von «Diffusionsechtheit» verleihen. In der Folgezeit ge­lang es, die Kuppler in einem gesonderten Kolloid zu emulsionieren, das in Gestalt winziger Teilchen in die Silberbromid-Gelatineemulsion gebracht wird und erst zur Reaktion kommt, sobald der Entwickler in die Schicht eintritt (Kodak). Schließlich hat man gelernt, sich von der Gelatine als Bindemittel ganz frei zu machen und die Kuppler in dem neuen Bindemittel – hydrophile, quellbare Polyvinyl­derivate – chemisch zu verankern (DUPONT). – Die Arbeitsgänge gehen im einzelnen aus Abb. 13 hervor.

Nach diesen Farb-Umkehr-Verfahren können far­bige Bilder aller Formate und Schmalfilme als trans­parente Unikate hergestellt werden, unter sparsamer Verwendung von Filtern, da zwei Schichtsorten in ver­schiedener Abstimmung für Tages- und Kunstlicht in den Handel kommen. Auch die Kopien oder Ver­größerungen von solchen Originalen sind möglich, da lediglich der gleiche Umkehrvorgang auf ein prinzipiell gleich aufgebautes, aber selektiver sensibilisiertes Material wiederholt zu werden braucht. Allerdings ist hierbei mit einem gewissen Farbverlust zu rechnen,

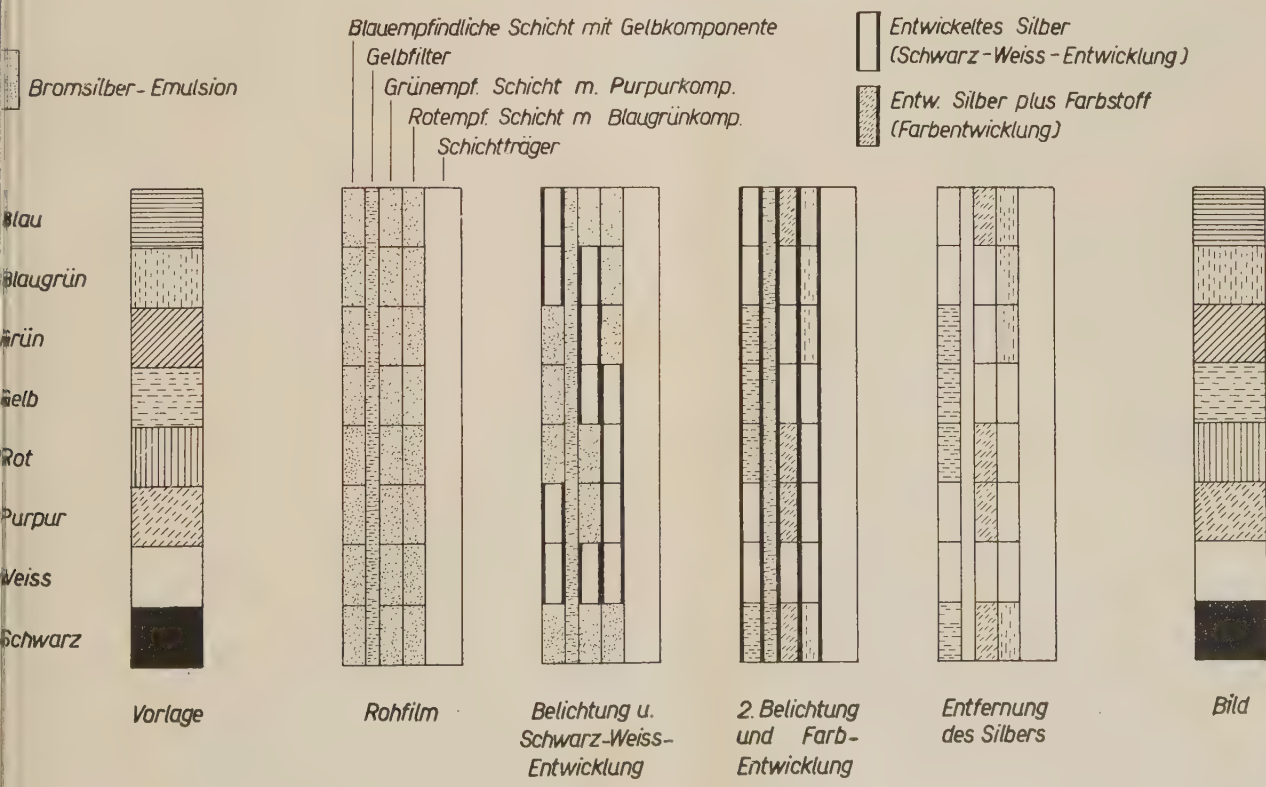


Abb. 13. Schema des Agfacolor-Farbentwicklungs-Umkehr-Verfahrens.



weil die zum Bildaufbau des Originals verwendeten Farbstoffe in manchen Spektralgebieten nicht mit den wünschenswerten Absorptionskurven arbeiten, wie aus den Kurven in Abb. 10 hervorgeht. Dennoch hat es sich gezeigt, daß bei sorgfältiger Abstimmung aller Variablen sogar Aufskizzen von befriedigender Qualität in großem Maßstabe hergestellt werden können, wie die Verarbeitung des Ansco-Printon-Films (die gleiche Schichtfolge auf opak-weißer Filmunterlage) erwiesen hat. In einer Großanlage in New York werden die Originale in einem elektronisch gesteuerten Gerät auf ihre Farbzusammensetzung abgetastet, auf 12,5 cm oder 20 cm breiten Ansco-Printonfilm in Rollenform kopiert oder vergrößert und diese Rollen in einer Entwicklungsmaschine kontinuierlich im Sinne von Abb. 13 behandelt, so daß das Band die Maschine fertig getrocknet verlassen kann und nur noch in die Einzelbilder zerschnitten zu werden braucht.

Zuletzt ist auch der eigentlich am nächsten liegende Weg für die Lösung des Problems beschritten worden, der dem normalen Schwarz-Weiß-Prozeß entspricht: Auf einer im Prinzip ebenso wie bisher aufgebauten Dreischichtenfolge wird nach der Belichtung zunächst eine Farbentwicklung durchgeführt, sodann anschließend das gebildete Silber entfernt und das restliche Silberbromid fixiert. In diesem Zustande liegt ein in den *Lichtwerten* negatives und in den *Farbwerten* kompensatives (oder komplementäres) Bild vor. Durch Kopieren dieses «kompensativen Negativs» auf ein ähnliches Material entsteht bei gleicher Behandlungsweise ein farbrichtiges Positiv. Dieses Verfahren läßt sich auch auf Papierkopien- und Vergrößerungen anwenden, so daß eine wenigstens teilweise Umstellung des normalen Schwarz-Weiß-Negativ-Positiv-Prozesses auf die geschilderte farbige Variante mit der Zeit zu erwarten steht, zumal die *Ansco* und die *Eastman-Kodak* in den USA., die *Agfa* in Deutschland, die *Ferrania* in Italien und die *Tellko* in der Schweiz ihre Verfahren bereits gestartet haben und andere Firmen vermutlich kurz davor stehen. Allerdings darf nicht vergessen werden, daß neben den bisher beim Schwarz-Weiß-Verfahren geübten Arbeitsregeln zur Erzielung optimalen Kontrastes und bester Schärfe der Bilder noch zusätzlich die sehr wichtige Farbabstimmung für Originalbeleuchtung und Kopierlichtfarbe zu beachten ist, um befriedigende Ergebnisse zu erhalten. Dazu kommt noch das weitere Problem, die von den verschiedenen Herstellern herausgegebenen Materialien in der Praxis untereinander austauschbar zu gestalten, so daß möglichst jeder Kolornegativfilm auf die übrigen Kolorpositivpapiere kopierfähig wird.

Faßt man alle bisher auf dem Weltmarkt erschienenen Farbfilmsorten zusammen, so gelangt man zu nebenstehender tabellarischer Übersicht.<sup>1</sup>

Wie man aus dieser Tabelle ersieht, hat das Verfahren bereits viele Abwandlungen und Anwendungsgebiete gefunden, wobei auch noch mancher weitere Ausbau zu erwarten steht. So wurden zwar schon während und nach dem zweiten Weltkriege etliche farbige Kinofilme nach dem Agfacolor-Negativ-Positiv-Verfahren hergestellt, so z. B. «Münchhausen» von der Ufa, «Die steinerne Blume» von russischer Seite und ähnlich mit Gevacolor-Negativ-Positiv einige Reklamefilme; der Anscofilm «Der Mann vom Eiffelturm» entstand dagegen nach einem «Umkehr-Umkehr»-Verfahren. Indessen wich man bei allen diesen Arbeiten insofern von der gebräuchlichen Kinopraxis ab, als man die Kopien unmittelbar vom Original-Negativ zog und auf die übliche Einschaltung duplizierter Negative (über ein Duplikat-Positiv) verzichtete. Hier stehen also noch Verbesserungen in Aussicht, und zwar auf folgenden Wegen, die für die Amateurpraxis bereits beschritten wurden.

Wir wiesen schon bei Besprechung der Abb. 5 darauf hin, daß die Absorptionen der Filterfarbstoffe für die additiven Methoden dem idealen Verlauf nur wenig nahe kommen. Für die in Abb. 10 gezeigten Kurven, die die Absorption der Farbstoffe für die subtraktiven Verfahren zeigen, sind nun die Fehler noch weitestgehend. Um diese Fehler zu korrigieren, ist die Eastman-Kodak-Gesellschaft (in Anlehnung an eine in der Reproduktionstechnik für Schwarz-Weiß schon lange benutzte Methode) zur Anwendung von «Masken» übergegangen, deren Wirkung wir uns an den Eigenschaften des Blau-Grün-Farbstoffes klarmachen wollen. Ein «ideales» Blaugrün sollte nur Rot absorbieren, Blau und Grün jedoch vollkommen durchlassen. Alle blaugrünen Farbstoffe, die uns in der Farbenphotographie zur Verfügung stehen, absorbieren jedoch außerdem bedeutende Anteile von Blau und Grün (Abb. 10), d. h. sie verhalten sich wie eine Mischung von «idealem» Blaugrün mit Rot (Rot absorbiert nach Abb. 5 Blau und Grün). Dadurch nun, daß man dem Blaugrünkuppler eine rote Färbung gibt, die bei der Entwicklung in Blaugrün übergeht, erreicht man, daß zusammen mit dem Blaugrünbild ein aus dem unverbrauchten Kuppler bestehendes positives rotes Farbstoffbild stehen bleibt, das den unerwünschten Rotgehalt des negativen Bildes kompensiert. Wir erhalten so ein ideales Blaugrünbild zusammen mit einem gleichmäßigen Rotschleier, der beim Kopieren weggefiltert wird. In gleicher Weise wird die unerwünschte Blauabsorption des Purpurbildes dadurch kompensiert, daß der entsprechende Kuppler eine gelbe Eigenfarbe hat. Diese zusätzlichen Farbstoffe, eingebettet in die eigentlichen Farbnegative, bezeichnet man als Farbmasken (F), mit denen nach unserer Tabelle die Sorten Kodacolor und Ektacolor ausgestattet sind. Anfänglich, z. B. bei den älteren Kodacolorfilmen, heute noch bei denen von Ansco, Ferrania und Tellko, diente eine Maske aus Silber zur

<sup>1</sup> Bei der Aufstellung dieser Übersicht war mir freundlicherweise Herr cand. phil. II W. GROSSMANN behilflich, wofür ich ihm auch an dieser Stelle danken möchte.



Die Farbenfilme des Weltmarktes

Hersteller	Bezeichnung	Art	Typen	Kuppler	Verarbeitung	Format	Maskierung	Kopierprozesse
Agfa, Deutschland	Agfacolor Agfacolor	Umk.	T u. K	A	H	Kl. R.	—	Agfacolor Papier Agfacolor Positivfilm
		Neg.	T u. K	A	V	Kl.R.F.	—	
Ansco, USA.	Anscocolor	Umk.	T u. K	A	V	Kl.R.F.	—	Anscocolor Papier Anso Printon Kopien (Seite 408 besprochen)
		Neg.	T	A	H	R.	S	
DuPont, USA.	Plenacolor Anscocolor Kinokopierfilm DuPont Color-Kinokopierfilm Typ 275	Kop.	K	A	H	Ki	—	nur für Kopierkinozwecke nur für Kinokopierzwecke
		Neg.	T	A	H	Kl. R.	S	
Ferrania, Italien Gevaert, Belgien	Ferraniacolor Gevacolor Gevacolor	Umk.	T u. K	A	V	Kl.R.F.	—	Ferraniacolorpapier Gevacolor Positivfilm
		Neg.	K	A	V	Kl.	—	
Ilford, England Kodak, USA. und England	Ilford Color Kodachrome	Umk.	T u. K	C	H	Kl.	—	Kodachrome Prints und Duplikate, auch auf Opakfilm
		Umk.	T u. K	C	H	Kl. F.	—	
	Ektachrome	Umk.	T u. K	B	V	R. F.	—	Dye Transfer (Hinweis Seite 406) Kodacolor Prints
		Neg.	T u. K	B	H	R.	F	
	Kodacolor Ektacolor	Neg.	K	B	V	F.	F	Dye Transfer (Hinweis Seite 406) Eastmancolor-Positiv Telcolor Papier
		Neg.	T u. K	B	H	Ki	F	
Kodak, USA.	Eastmancolor	Neg.	T u. K	B	H	Ki	F	
Tellko, Schweiz	Telcolor	Neg.	T	A	H	Kl.	S	

Erklärungen

Bezeichnung: Bei den Kodakfarbfilmen für den Amateur bedeuten die Silben «Koda-» Fabrikentwicklung, «Ekta-» Entwicklung durch den Verbraucher; «-color» bedeutet Negativfilm, «-chrome» Umkehrfilm.

Art: Umk. = Umkehrfilm, Neg. = Negativfilm, Kop. = Kopierfilm.

Typen: T = Tageslichtfilm, K = Kunstlichtfilm (3200 bis 3400° K).

Kuppler: A = Diffusionsechte Kuppler in der Gelatine.  
B = Kuppler in hydrophile Kunstharzmasse gebettet, die in Form kleinster Partikel in der Schichtgelatine verteilt ist.

C = Kuppler im Farbentwickler enthalten.  
D = Kuppler chemisch im Bindemittel gebunden; dieses selbst ist ein quellbares Polyvinyl-Derivat.

Verarbeitung: H = Verarbeitung wird durch die Herstellerfirma oder durch von ihr konzessionierte Laboratorien vorgenommen.  
V = Verarbeitung durch den Verbraucher möglich.

Formate: Kl. = Kleinbildfilm, R = Rollfilm, F = Formatfilm (Planfilm).  
Ki = Kinefilm 35 mm. Bei manchen Firmen wird Kunstlichtfilm nicht in allen Formaten hergestellt, in denen Tageslichtfilm geliefert wird.

Maskierung: S = Silbermaske.  
F = Farbmasken.

Farbverbesserung (S). Solche Schwarz-Weiß-Masken gestatten eine allgemeine Hebung der Farbsättigung, indem sie den Hell-Dunkel-Kontrast reduzieren, so daß der Farbkontrast relativ größer wird. Farbverschiebungen werden dadurch nicht korrigiert. Die Silbermasken können im Verlauf der Verarbeitung durch eine dosierte Nachbelichtung (meist mit farbigem Licht) und geeignete Schwarz-Weiß-Entwicklung des restlichen Silberbromids erzeugt werden. Im entwickelten Film besteht dann neben dem negativen Farbstoffbild ein schwaches, positives Silberbild.

Diese Erfahrungen werden nun schrittweise auf die Kinoindustrie übertragen, wobei auch der Kopierfilm, namentlich hinsichtlich der Bildschärfe noch verbesserungsfähig ist. Das Auflösungsvermögen eines Farbfilms ist immer kleiner als das eines normalen Schwarz-Weiß-Filmes. Das Bild in der ersten Schicht ist am schärfsten, durch Lichtstreuung entsteht eine gewisse Unschärfe in der zweiten und besonders in der dritten Schicht. Unser Auge beurteilt die Gesamtbildschärfe nach der Schärfe der relativ dunkeln Purpur-

und Blaugrünbilder, während beim Gelbbild eine leichte Unschärfe in Kauf genommen wird. Aus diesem Grunde hat man versucht, das Gelbbild in die unterste Schicht zu verlegen, indem man die Schichtreihenfolge gegenüber den üblichen Farbfilmen umgestellt hat. Die erste Schicht ist grünempfindlich und enthält die Purpurkomponente, die zweite Schicht ist rotempfindlich und trägt die Blaugrünkomponente, und die unterste Schicht ist blauempfindlich und enthält die Gelbkomponente. Die Blauempfindlichkeit der beiden oberen Schichten wird sehr gering gehalten, die unterste Schicht besitzt hingegen höchste Blauempfindlichkeit.

In einer anderen Kino-Kopierfilm-Sorte, die von DuPont hergestellt wird, ist über die Umstellung der Farbschichten hinaus auch noch die Zuordnung der spektralen Empfindlichkeit geändert worden, so daß dieses Material nur von Schwarz-Weiß-Teilnegativen, nicht aber von normalen Farbnegativen kopiert werden kann. Außerdem enthält die Schicht keinerlei Gelatine mehr, sondern sie besteht aus einem quellbaren Polyvinylderivat, an das die Kuppler chemisch ge-



bunden werden und auf diese Weise diffusionsecht festgelegt sind. Die Anordnung ist diese: Die oberste, blauempfindliche Schicht enthält die Purpurkomponente, dann folgt die rotempfindliche Schicht mit der Blaugrüntonkomponente und schließlich die grünempfindliche Schicht mit der Gelbkomponente. Das Auflösungsvermögen dieses Materials übersteigt 100 Linien je mm.

Schon diese kurze Übersicht zeigt, daß sich die Fortschritte der Farbenphotographie gerade jetzt wieder in lebhaftem Fluß befinden, nachdem ihr durch das Prinzip der Farbentwicklung erneut ein starker Anstoß zuteil wurde.

#### Summary

In the early days of photography daguerrotypes were stained with specific pigments (ISENBRING). LIPPMANN'S "interference procedure", working with the pure

colours of the spectrum is of great interest theoretically, but cannot be used practically. Only after the division of the visible spectrum into 3 regions: 400–500 m $\mu$  (blue), 500–600 m $\mu$  (green) and 600–700 m $\mu$  (red) and the discovery of sensitizers by VOGEL did the modern colour photography become possible for practical purposes. DUCOS DU HAURON recommended several different ways for colour photography based on that principle and even followed some of them up by himself; however only a few have proved valuable. The method of microscopic-coloured mosaic filters and the lenticular film method work with an additive process. For coloured prints in books and journals one first produces separate exposures from the original by the aid of filters that are transparent in the before-mentioned regions of the spectrum. By means of these separate negatives the print is produced with printing stains that are complementary to the filter stains, i.e. yellow, magenta and cyan. The Technicolor-method now widely used in cinematography works under similar conditions. Beside that only the method of colour development in different varieties and ways of application is in use today.

## Chemical Factors Involved in the Induction of Infectious Allergy<sup>1</sup>

By SIDNEY RAFFEL,<sup>2</sup> Stanford, Cal.

The allergy which accompanies tuberculosis is an outstanding example of the hypersensitivity of "infectious type", termed also "tuberculin-type" or "delayed" allergy. The studies to be discussed here are mainly concerned with tuberculous allergy and with the hypersensitivity which may be induced to unrelated antigens by the use of a constituent of the tubercle bacillus. However, for the sake of a more general orientation it has seemed desirable to include in this review a discussion not only of allergy, but of the other basic responses of the host to the tubercle bacillus as well. We may then see how far our current information permits us to match up these host responses with individual chemical components of the bacillus.

### I. Basic Responses of the Host to the Tubercle Bacillus

The fundamental responses of the infected host to the tubercle bacillus include (a) tubercle formation, (b)

the development of allergic reactivity, and (c) the acquisition of specific resistance. The various aspects of the disease process will stem from the interplay of the latter two factors especially.

### II. The Chemical Constituents of the Tubercle Bacillus

Only a brief survey can be given here of the detailed investigations of the past thirty years relative to the chemical composition of the tubercle bacillus, and this must be kept pertinent to the factors which are to be discussed. The accompanying diagram charts these substances.

(a) *Proteins*.—SEIBERT<sup>1</sup> especially has made detailed studies of the protein constituents of the human tubercle bacillus. These are not homogeneous in their physico-chemical properties nor entirely so in their biological properties<sup>1,2</sup>, but for immunological purposes, as discussed below, the proteins may be considered as a single substance in respect to their qualitative relationship to host responses.

(b) *Lipids*.—Tubercle bacillary lipids have been extensively studied by R. J. ANDERSON and his associ-

<sup>1</sup> Based upon a lecture delivered on March 22, 1950, to a meeting of the Naturforschende Gesellschaft of Basle.

<sup>2</sup> Department of Bacteriology and Experimental Pathology, School of Medicine, Stanford University, California. The author's work represented here has been supported by grants from the National Tuberculosis Association, the California Tuberculosis and Health Association, and the Alameda County Tuberculosis and Health Association.

<sup>1</sup> F. B. SEIBERT, Chem. Rev. 34, 107 (1944).

<sup>2</sup> E. B. BEVILACQUA and J. R. McCARTER, J. Exp. Med. 87, 229 (1948). — J. R. McCARTER and E. B. BEVILACQUA, J. Exp. Med. 87, 245 (1948).



ates<sup>1</sup> following the work of T.B. JOHNSON and his group<sup>2</sup> in America. In France also this subject has received considerable attention. Our interest here will center upon the current studies of LEDERER and his coworkers<sup>3</sup> in Paris.

Anderson's work has identified in the human and other varieties of bacillus a series of substances extractable by organic solvents. Preliminary extraction with ether-alcohol mixture yields a *phosphatide* containing fatty acids, sugar acids, and a still unidentified nitrogenous base. A series of acetone-soluble liquid and solid fatty acids are also removed by this procedure. When the residual bacilli from this extraction are subsequently treated with chloroform, a wax-like substance is extracted, referred to as *crude wax*<sup>4</sup>. This substance, which is chemically not a wax but resembles beeswax in appearance and consistency, is a complex mixture which may be easily segregated into *purified wax* and *soft wax*. When purified wax is further broken down<sup>5</sup> by saponification it yields various fatty acids, an unsaponifiable wax fraction, and a specific polysaccharide, different from that obtained from the culture filtrate or from the bacillary bodies by simple extraction. This we shall refer to as "polysaccharide W"

The unsaponifiable wax is composed of several substances, including *mycolic acid*, an acid-fast substance for which ANDERSON *et al.*<sup>6</sup> have proposed the formula  $C_{86}H_{171} \begin{Bmatrix} OCH_3 \\ OH \\ COOH \end{Bmatrix}$ , and a molecular weight of almost 1300. These data have been confirmed by LEDERER<sup>7</sup> who has added the observation that  $\alpha$  and  $\beta$  isomers may be separated by chromatographic adsorption. In addition, unsaponifiable wax contains tuberculostearic and mycocerosic acids, all three acids presumably in combination with phthiocerol, a dihydric higher alcohol.

The polysaccharide W which splits from the lipids on hydrolysis of purified wax was thought by ANDERSON to be in combination with mycolic acid and other fatty acids, and this has been verified by ASSELINEAU<sup>8</sup>. In the accompanying diagram LEDERER's fractionation of purified wax by means of chromatographic adsorption on alumina columns is also shown, since the lipopolysaccharide by this procedure remains intact, and has been employed in the studies to be described.

Following the chloroform extraction, treatment of the bacillary residue with a mixture of alcohol, ether

and hydrochloric acid releases *firmly bound lipids*, a mixture of unsaponifiable wax, fatty acids and polysaccharide.

ANDERSON's figures indicate a wide variation in the quantities of these lipoidal fractions from different strains of human-type bacilli. In the widely employed H37 strain the total lipids represent about 35 per cent of the bacillary weight, of which the phosphatide is 6.5 per cent, the crude wax 11 per cent, and the firmly bound lipid about the same.

(c) *Polysaccharide*.—From the bacillary bodies after removal of phosphatide and wax, polysaccharides (denoted by A in the diagram) may be obtained by extraction with 25 per cent alcohol. These are similar to or the same as the polysaccharides in tuberculin<sup>1</sup>.

### III. Relationship of the Chemical Constituents of the Tubercle Bacillus to Responses of the Host

(a) *The Tubercle*.—SABIN<sup>2</sup> has demonstrated that the isolated *phosphatide* of the tubercle bacillus when injected into the tissues of normal animals induces the formation of the tubercle, and that this activity is in the main due to the *phthioic acid* component. Monocytes which ingest phosphatide disperse this through their cytoplasm in very fine particles, and thus become epithelioid cells. These usually arrange themselves in a fashion similar to the epithelioid cells in the "hard" tubercle of infection, and through nuclear division epithelioid giant cells—the Langhans cells—are formed. Other bacillary constituents, for example the proteins, may also cause the formation of epithelioid cells, but apparently not so readily nor so generally as does the phosphatide. Since, as the chart shows, phthioic acid occurs in other fractions than the phosphatide, these may also be expected to induce cellular changes in the tissues. The phosphatide, however, is most effective in this activity, presumably because phthioic acid occurs here in greatest concentration.

(b) *Allergic Reactivity*.—The author's studies have been largely concerned with the allergic response of the host to the tubercle bacillus<sup>3</sup>. As was stated earlier, the allergy of tuberculosis is a prime example of hypersensitivities of the "infectious" or "delayed" type, as distinguished from those of the "anaphylactic" or "immediate" type. Allergies of both kinds are based upon the fact of altered responsiveness of the sensitized body to antigenic substances. Aside from this basic agreement however, certain marked differences are

<sup>1</sup> R. J. ANDERSON, Chem. Rev. 29, 225 (1941).

<sup>2</sup> T. B. JOHNSON, Nat. Tuberc. Assoc. Trans. 23, 233 (1927).

<sup>3</sup> J. ASSELINEAU and E. LEDERER, Bull. Soc. Chim. biol. 37, 492 (1949).

<sup>4</sup> J. A. CROWDER, F. H. STODOLA, M. C. PANGBORN, and R. J. ANDERSON, J. Amer. Chem. Soc. 58, 636 (1936).

<sup>5</sup> R. J. ANDERSON, J. Biol. Chem. 74, 525 (1927); 83, 505 (1929).

<sup>6</sup> F. H. STODOLA, A. LESUK, and R. J. ANDERSON, J. Biol. Chem. 126, 505 (1938).

<sup>7</sup> J. ASSELINEAU and E. LEDERER, C. r. Acad. Sci. 228, 1892 (1949).

<sup>8</sup> J. ASSELINEAU, C. r. Acad. Sci. 229, 791 (1949).

<sup>1</sup> M. HEIDELBERGER and A. E. O. MENZEL, J. Biol. Chem. 118, 79 (1937); F. E. HOOPER, A. G. RENFREW, and T. B. JOHNSON, Amer. Rev. Tuberc. 29, 66 (1934); F. SEIBERT, Amer. Rev. Tuberc. 59, 86 (1949).

<sup>2</sup> K. C. SMITHBURN and F. R. SABIN, J. Exp. Med. 68, 641 (1938); F. R. SABIN, Amer. Rev. Tuberc. 44, 415 (1941).

<sup>3</sup> S. RAFFEL, Amer. Rev. Tuberc. 54, 564 (1946); S. RAFFEL, J. Inf. Dis. 82, 267 (1948); S. RAFFEL and J. E. FORNEY, J. Exp. Med. 88, 485 (1948); S. RAFFEL, L. E. ARNAUD, C. D. DUKES, and J. S. HUANG, J. Exp. Med. 90, 53 (1949).



known to differentiate these hypersensitivities, both with regard to *induction* of the allergic state and the *nature of the response elicited* in the already sensitized subject.

For its *induction*, the anaphylactic type of hypersensitivity requires only that an antigenic substance, for example a bland protein, gain access to the tissues. Within a period of perhaps ten days it will be found that the subject no longer treats the antigen as a bland substance, for if it be reinjected certain general or local reactions to the protein will occur, depending upon the route of injection, the species of animal, and other considerations. In contrast, "infectious" hypersensitivities cannot be induced by antigenic substances alone. It is necessary that the infectious organism be present in the tissues, either as an actual agent of disease or in the form of a killed vaccine. In addition to tuberculin allergy many examples of this type of hypersensitivity are well known amongst bacterial, viral and fungal diseases. Instances include the classical response to vaccinia virus in the previously vaccinated subject, the allergy to the *Brucellas*, and the reactivity to *Coccidioides immitis*. These are the more striking and familiar examples, but it is probably safe to assume that this kind of hypersensitivity is induced by all infectious agents, though with considerable variation in degree, so that in many instances its presence may be appreciated only through special and careful tests. In most cases the allergy is not so intense as to play a role in the pathogenesis of the disease caused by the particular agent concerned.

There are differences also in the *nature of the responses* of sensitized subjects to antigen in anaphylactic and infectious hypersensitivities. These differences are in (1) rapidity of response, (2) the kind and extent of cellular involvement, and (3) the relationship of humoral antibody to the response.

(1) *Rapidity of response*.—The anaphylactic type of response usually occurs immediately after contact with antigen in the already sensitized subject. As is well known, anaphylactic shock itself may become apparent within seconds after injection of antigen. In contrast, the responses in infectious allergy are delayed, whether these be systemic or limited to the skin. Manifest skin reactions appear after perhaps six hours, but reach their peak at 24 to 48 hours. Systemic reactions may become discernible in about the same interval, although subjectively the sensitive individual may feel the effects of exposure to antigen within about 3 hours. From these considerations the terms "immediate" and "delayed" have been applied to the two types of allergy.

(2) *Kind and extent of cellular involvement*.—The tissues and cells which take part in anaphylactic reactions are chiefly involuntary muscle and blood vessel walls. In recent years it has become appreciated also that collagen fibers may undergo focal degener-

ation as seen in the lesions accompanying serum sickness and rheumatic fever<sup>1</sup>. Whatever the manifestations of the reaction however, smooth muscle and vascular tissues are chiefly concerned, and changes in these may cause the bronchiolar and other contractions in anaphylactic shock as well as the edematous changes seen in the local wheal. In infectious hypersensitivity on the other hand various kinds of cells—perhaps all cells of the body—may be affected by exposure to antigen. Thus, epidermal and dermal cells may be injured by the injection of antigen into the skin, and if cells of the spleen or bone marrow are explanted into tissue culture to which the antigen has been added, these may degenerate, as will be described below in regard to tuberculosis. There seems here to be an individual responsiveness of cells of many types in contrast to the special "shock tissues" which take part in anaphylactic reactions.

(3) *Relationship of humoral antibody to the response*.—In anaphylactic sensitivity the "shock tissues" described above appear to be acted upon by a product of antigen-antibody union, in the nature of a histamine-like substance. The reaction between antigen and antibody may take place in or upon the tissues affected—for this detail the available evidence is not clear—but the antibody concerned is the same as that which circulates in the blood. This is apparent from the fact that a normal subject may be rendered sensitive by transfer of serum from a sensitive one, and that isolated tissues of the kind mentioned, e.g. smooth muscle suspended in a bath *in vitro*, may be sensitized by the addition of humoral antibodies to the bath so that it will contract on subsequent addition of antigen.

Again a contrast presents itself when we turn to delayed hypersensitivity. Humoral antibodies may be formed against the antigenic constituent of the infectious agent which has induced the sensitivity, but these antibodies have no relationship to the hypersensitive state. Thus, this type of hypersensitivity cannot be transferred from a sensitive to a normal subject by means of serum, nor can isolated normal cells be so modified by humoral antibodies as to react with antigen. The transfer of this type of hypersensitivity has been effected only by means of cells<sup>2</sup>.

(4) *Studies of tuberculous allergy*.—We return now to tuberculosis as a specific example of infectious hypersensitivity. The induction of tuberculin sensitivity requires the presence of living or killed tubercle bacilli in the body. The specific antigen of the bacillus responsible for the allergic state is the protein; this has been appreciated for many years because the isolated bacillary protein *elicits reactions* in sensitized subjects.

<sup>1</sup> A. R. RICH, *The Harvey Lectures* 42, 106 (1947); P. KLEMPERER, in: *Allergy in Theory and Practice* by R. A. Cooke, (Saunders Co., Philadelphia, 1947), p. 69.

<sup>2</sup> F. A. McJUNKIN, *J. Exp. Med.* 33, 751 (1921). — K. LANDSTEINER and M. W. CHASE, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 49, 688 (1942).



But, conforming to what was said above concerning the inability of isolated antigens to induce infectious hypersensitivity, it is found that tuberculo-protein, despite its good qualities as an antigen, cannot when separated from the bacterial cell induce the allergic state.

*Chemical constituents of the bacillus responsible for the induction of tuberculous allergy.*—During the course of a study of the relationship of tubercle bacillary components to host responses, the author and his associates have had occasion to administer to animals many of the isolated substances described earlier, as well as bacillary cells from which certain components had been extracted<sup>1</sup>. In some instances combinations of these substances were employed, and it was observed that those animals which received the combination of bacillary protein with the wax-developed sensitivity to Old Tuberculin. As a corollary to this was the further observation that animals treated with bacillary cells from which the wax had been extracted did not develop tuberculin sensitivity, though the protein in these bacilli had remained antigenically intact. It became apparent then that the wax fraction of the organism determines the development of the delayed type of allergy to the protein. So far as we have been able to determine the wax itself is immunologically inert, causing no detectable response in animals treated with it. But if it is injected together with protein as a mixture, or separately within a period of one or two hours, the result of this combined administration is the development of the typical hypersensitivity of tuberculosis. For this statement fuller evidence will be presented below.

From the chemical standpoint we have wished to know precisely which ingredient of the purified wax might be responsible for this directive effect in the induction of hypersensitivity. For this purpose R. J. ANDERSON kindly supplied us with the substances which, as shown in the chart, he has segregated from purified wax by hydrolysis. Apparently no one of these, including mycolic acid, polysaccharide W, phthioic acid, mycocerosic acid, tuberculostearic acid, phthiocerol or unsaponifiable wax has the same directive activity in the induction of tuberculous allergy as has the purified wax itself. Recently, however, we have been supplied by E. LEDERER with wax components isolated by chromatographic methods on alumina columns<sup>2</sup>, and one of these, a lipopolysaccharide, appears to be the active ingredient of the wax. This substance is made up of mycolic acid bound through its carboxyl radical with the polysaccharide W as the major components, with about 5 per cent of other fatty acids also bound to the carbohydrate. There are present in the lipopolysaccharide also small amounts

of three amino acids<sup>1</sup>, alanine, glutamic acid and  $\alpha$ ,  $\epsilon$  diaminopimelic acid, the last recently isolated as well from the diphtheria bacillus by WORK<sup>2</sup>. It appears probable then that an ester of mycolic acid with polysaccharide W is the essential factor in determining the nature of the response of the body to tuberculo-protein, but further studies are being carried out to establish this point<sup>3</sup>.

It is of interest to attempt to correlate these findings with other current investigations along related lines. CHOUCROUN<sup>4</sup> has described a sensitizing substance obtained from the human tubercle bacillus by extraction with paraffin oil, but a similarity to the wax component is not apparent in view of its insolubility in chloroform and other organic solvents. In respect to tubercle bacillary virulence, recent work by LEDERER and his associates<sup>5</sup> and possibly also by BLOCH<sup>6</sup> may relate the lipopolysaccharide to this, though the status of this relationship is yet too fresh for detailed interpretation.

*Criteria employed in evaluating the allergy induced by protein and wax.*—The author's studies have required that so far as possible objective criteria be met in evaluating the type of hypersensitivity established by the injection of tuberculo-protein and wax. Skin reactivity to Old Tuberculin is itself a good criterion, but it is open to the objection that an intense reaction of the local anaphylactic type might be sufficiently protracted to masquerade as a reaction of the delayed type. Accordingly, experiments were carried out as described below.

Based upon the knowledge discussed earlier that individual cells of the animal with infectious hypersensitivity are responsive to contact with antigen, RICH and LEWIS<sup>7</sup> some years ago carried out studies with tissue cultures of splenic cells of tuberculous animals, and found that in the presence of tuberculin the cells in such cultures ceased to migrate and underwent disintegration. This observation has been confirmed by others<sup>8</sup>. We<sup>9</sup> have applied this method to the problem at hand, employing the bone marrow of guinea pigs which had been previously treated in three different ways: by injection of tuberculo-protein alone, with wax, or by infection. The bone marrow explants were then exposed to a suitable concentration of dialyzed Old Tuberculin, and the results are shown in

<sup>1</sup> J. ASSELINEAU and E. LEDERER, C. r. Acad. Sci. 230, 142 (1950).

<sup>2</sup> E. WORK, Nature 165, 74 (1950).

<sup>3</sup> S. RAFFEL, TH. FRIIS, E. LEDERER, and H. C. ENGBAER, work in progress.

<sup>4</sup> N. CHOUCROUN, Amer. Rev. Tuberc. 56, 203 (1947).

<sup>5</sup> J. ASSELINEAU and E. LEDERER, C. r. Acad. Sci. 230, 142 (1950); J. ASSELINEAU, H. DEMARTEAU, and E. LEDERER, C. r. Acad. Sci. 230, 877 (1950).

<sup>6</sup> H. BLOCH, J. Exp. Med. 91, 197 (1950).

<sup>7</sup> A. R. RICH and M. R. LEWIS, Bull. J. Hopk. Hosp. 50, 115 (1932).

<sup>8</sup> J. D. ARONSON, J. Exp. Med. 54, 387 (1931); J. Immunol. 25, 1 (1933); J. K. MOEN and H. F. SWIFT, J. Exp. Med. 64, 339 (1936).

<sup>9</sup> S. RAFFEL, J. Inf. Dis., 82, 267 (1948).

<sup>1</sup> S. RAFFEL, Amer. Rev. Tuberc. 54, 564 (1946).

<sup>2</sup> J. ASSELINEAU and E. LEDERER, Bull. Soc. Chim. biol. 31, 492 (1949); J. ASSELINEAU, C. r. Acad. Sci. 229, 791, (1949).



the accompanying figures (Fig. 1 to 6). It is first seen that normal bone marrow is not injured by the tuberculin preparation employed (Fig. 1 and 2). Secondly, it is apparent (Fig. 3 and 4) that the cells from animals sensitized with tuberculo-protein *alone* are not injured by the presence of tuberculin in the culture, because the "shock tissues" for anaphylactic reactivity are not present here, although the animals from which these cells were obtained were highly subject to anaphylactic shock. Thirdly, it is seen that the cells from those animals sensitized by injections of tuberculo-protein with wax are highly vulnerable to tuberculin (Fig. 5 and 6), precisely as are those from animals with tuberculous infection.

Analogous studies have been made *in vivo*, employing the corneas of intact animals rather than cells transferred to tissue cultures<sup>1</sup>. The cornea, a tissue without blood vessels or involuntary muscle, is incapable of taking part in an anaphylactic type of response no matter how highly sensitized the animal may be. But the corneal cells can become involved in the infectious type of hypersensitive response on the basis of the sensitivity of corneal cells *per se* to antigen. Since it is possible then to demonstrate a corneal reaction only in the animal with the infectious type of hypersensitivity, the elicitation of a reaction is itself evidence that the animal has this kind of allergy. Again, as in the tissue culture studies, the results were obtained from animals prepared in three different ways, and tested by the deposition of small volumes of tuberculin in their corneas. In a normal group it was found that no serious injury was evident 24 to 48 hours after such an injection (Fig. 7). In a group anaphylactically sensitized by means of tuberculo-protein alone, and highly sensitive to this antigen when injected intravenously or into the skin, there was similarly no response in the cornea (Fig. 8). In contrast, animals sensitized by the administration of tuberculo-protein with wax responded to the intracorneal injection of protein with marked damage to the corneal fibers, and with secondary edema and inflammation (Fig. 9). These last changes were identical with those elicited in the corneas of tuberculous animals. The photographs used here for illustration were actually made from the corneas of animals sensitized to another antigen (egg albumin) with tubercle bacillary wax, since no photographs of the groups under discussion are presently available. The reactions are entirely analogous however.

In addition to these methods of study other procedures, including tests of KOCH reactivity, of systemic responses to tubercle bacilli and tuberculin, and of the non-transferability of the sensitivity by serum, agreed in pointing to the conclusion that the allergy induced by tuberculo-protein and wax is identical with that which occurs in tuberculous infection.

<sup>1</sup> S.W. HOLLEY, Amer. J. Path. 11, 937 (1935), A.R. RICH and H.R. FOLLIS, Jr., Bull. J. Hopk. Hosp. 66, 106 (1940).

*Activity of wax in "directing" the allergic response of the body to other antigens.*— The fact that tubercle bacillary wax functions as it does with tuberculo-protein

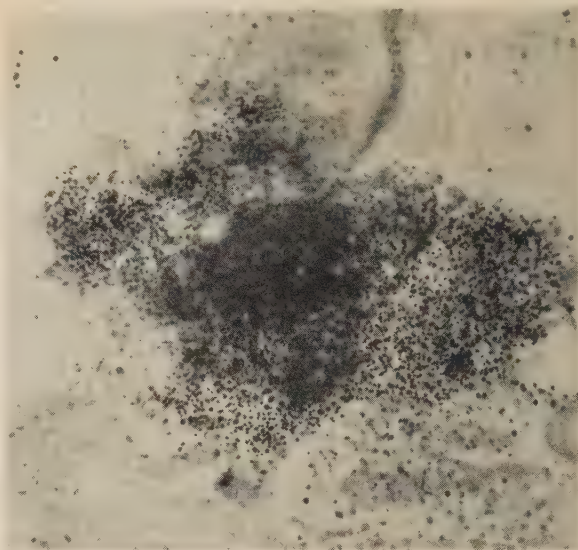


Fig. 1. — Bone marrow culture of a normal guinea pig after 24 hours of exposure to dialyzed O.T. 1:30. 165 ×. Harris hematoxylin stain.

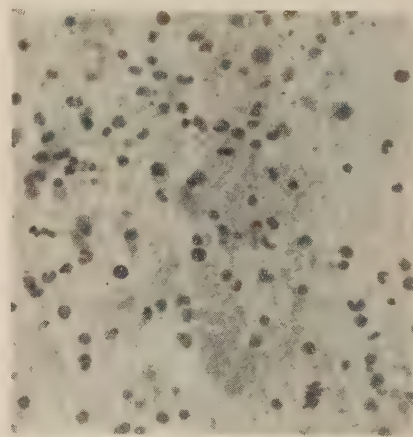


Fig. 2. — Same explant, 400 ×.

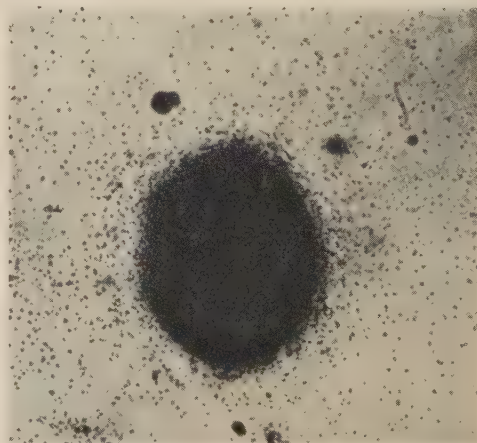


Fig. 3. — Bone marrow of a guinea pig sensitized with tuberculo-protein alone, after 24 hours of exposure to dialyzed O.T. 1:30. 165 ×. Harris hematoxylin stain.



suggested that this might be a general property of this lipid with other antigenic substances also, entirely unrelated to the tubercle bacillus. This suggestion receives considerable support from the finding by DIENES<sup>1</sup> and HANKS<sup>2</sup> some years ago that in guinea

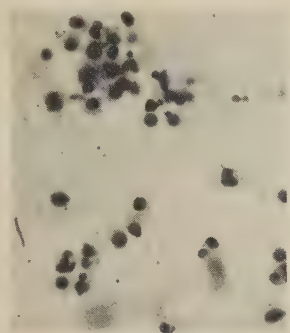


Fig. 4. — Same explant, 900 ×.

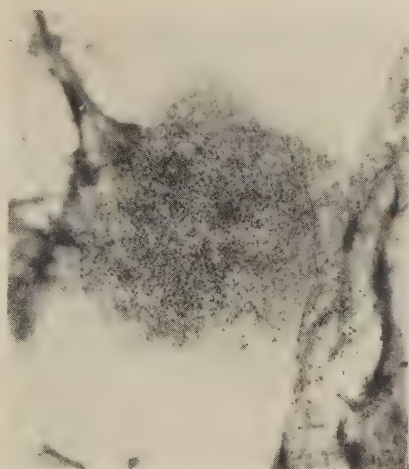


Fig. 5. — Bone marrow of a guinea pig sensitized with tuberculo-protein and wax, after 24 hours of exposure to dialyzed O.T. 1:30. 165 ×. Harri's hematoxylin stain.

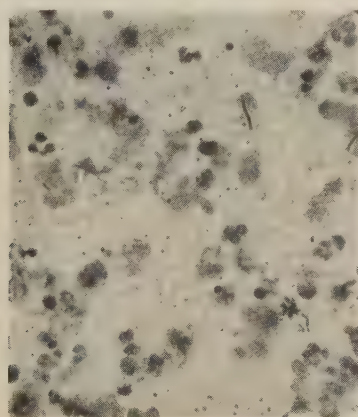


Fig. 6. — Same explant, 900 ×.

Figs. 3, 4, 5 and 6

(Taken from S. RAFFEL, J. Infect. Diseases, 82, 267 [1948])

<sup>1</sup> L. DIENES and E. W. SCHOENHEIT, J. Immunol. 14, 9 (1927); L. DIENES, J. Immunol. 15, 153 (1928); 20, 221 (1931).

<sup>2</sup> J. H. HANKS, J. Immunol. 28, 105 (1935).

pigs infected with tubercle bacilli, or injected with killed bacilli, it was possible to establish the tuberculin-type of reactivity to various antigenic substances, such as for example egg white. To investigate this possibility with the purified wax of the bacillus we employed two antigens, one a protein of non-infectious source, egg albumin, the second a simple chemical substance, picryl chloride, which becomes antigenic after injection because of its marked ability to combine with body proteins which then function as "schleppers"<sup>1</sup>.

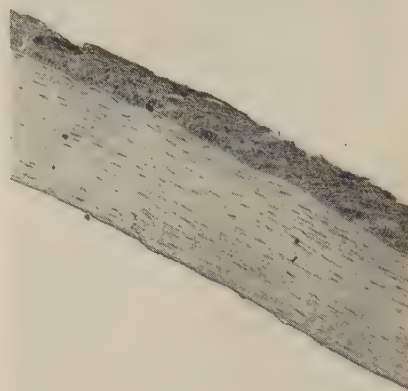


Fig. 7. — Cornea of a normal guinea pig, 48 hours after injection of egg albumin. 85 ×. Hematoxylin-eosin stain.

Egg albumin when injected alone into animals induces the formation of humoral antibody and of a high degree of anaphylactic sensitivity. It has been possible by the simultaneous injection of bacillary wax to invoke in addition the tuberculin-type of reactivity to this protein. This has been evidenced by the character of the skin reactions to egg albumin and as well by the behavior of explanted tissues in culture and by corneal cells *in vivo*. Fig. 7 to 9 are illustrations of the last-mentioned effect employing egg albumin as the intra-corneal antigen. This result in the guinea pig sensitized with egg albumin and wax and injected later intracorneally with albumin (Fig. 9) is as striking as that seen in tuberculous animals injected intracorneally with tuberculin<sup>2</sup>.

The irritating properties of picryl chloride for tissues has not permitted its use in tissue culture or corneal studies, but another means has been available for evaluating the effect of tubercle bacillary wax upon the response of the animal to this simple substance. LANDSTEINER and CHASE<sup>3</sup> found that picryl chloride injected intraperitoneally into guinea pigs causes the

<sup>1</sup> K. LANDSTEINER and J. JACOBS, J. Exp. Med. 61, 643 (1935); 64, 625 (1936); P. G. H. GELL, C. R. HARRINGTON, and R. P. RIVERS, Brit. J. Exp. Path. 27, 267 (1946).

<sup>2</sup> S. RAFFEL, L. E. ARNAUD, C. D. DUKES, and J. S. HUANG, J. Exp. Med., 90, 53 (1949).

<sup>3</sup> K. LANDSTEINER and M. W. CHASE, J. Exp. Med. 66, 337 (1937); 73, 431 (1941).



establishment of both antibodies and anaphylactic reactivity, but no *contact reactivity* of the skin to application of the substance. This last type of response, a characteristic one in the human being with respect to



Fig. 8. — Cornea of a guinea pig sensitized with egg albumin alone, 48 hours after injection of egg albumin. 85  $\times$ . Hematoxylin-eosin stain.

(Taken from S. RAFFEL *et al.*, J. Experiment. Med., 90, 53 [1949])

various industrially employed chemical substances and certain plant resins (primula, poison oak, poison ivy), is a form of delayed allergic response and exists independently of anaphylactic reactivity to the same antigen<sup>1</sup>. LANDSTEINER and CHASE<sup>2</sup> were able to cause contact reactivity by the intraperitoneal injection of picryl chloride provided that killed tubercle bacilli were injected with it, a finding reminiscent of those of DIENES and HANKS mentioned earlier.

When we employed purified wax with picryl chloride we were able to induce an intense degree of epidermal contact reactivity to the chemical itself, and it was possible to abolish the concomitant anaphylactic sensitivity of such animals by desensitization, leaving this delayed form of allergy intact<sup>3</sup>.

From the broader biological standpoint it would of course be of utmost interest to know whether in other infectious agents there may exist a chemical basis for the delayed hypersensitive state analogous to that found in the tubercle bacillus. In several instances we know that the antigenic moiety is analogous, i.e. a protein. Whether a lipoidal factor may also be involved has been the subject of study in the author's laboratory for some time, and our observations,

though incomplete, indicate that there may be lipids in other infectious agents with a biological property in respect to sensitization similar to that of the wax of the tubercle bacillus.

*Nature of the activity of wax in modifying hypersensitive response.*—We do not as yet have evidence as to the mechanism through which tubercle bacillary wax alters the channel of hypersensitive response of the animal body. The effect is not that of an immunologic *adjuvant*, by which is meant a substance which, while not specifically participating in inducing an immunologic response, causes a more marked response to the antigen with which it is injected. Such an activity is analogous to that of a chemical catalyst, and is possessed by a number of substances, e.g. the alum commonly employed in the preparation of toxoids. Such precipitated toxoids are better immunizing agents than the toxoids in solution, although the antibody response is in no wise directed against the alum.

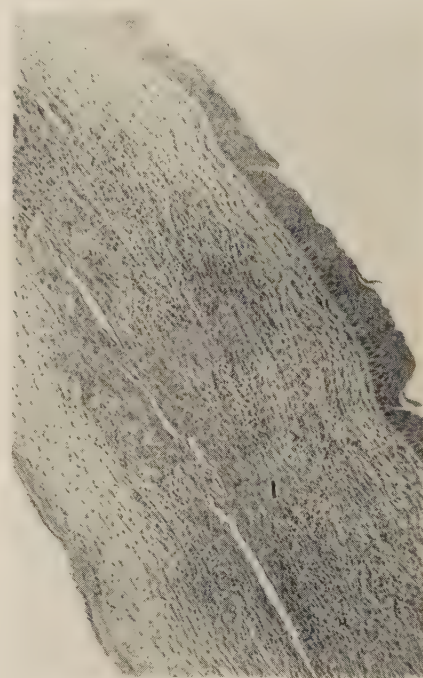


Fig. 9. — Cornea of a guinea pig sensitized with egg albumin plus wax, 48 hours after injection of egg albumin. 85  $\times$ . Hematoxylin-eosin stain.

(Taken from S. RAFFEL *et al.*, J. Experiment. Med. 90, 53 [1949])

The bacillary wax has no such effect. With three antigens, tuberculo-protein, egg albumin and picryl chloride, we have been able to discern no indication that the addition of wax increases antibody responses or intensifies anaphylactic sensitivity. These remain the same as in animals receiving the antigens alone. The wax causes *in addition* the appearance of the infectious type of hypersensitivity.

It is provocative to speculate that the ability of the wax to cause foreign body giant cell formation and

<sup>1</sup> K. LANDSTEINER and W. M. CHASE, J. Exp. Med. 66, 337 (1937); 73, 431 (1941).

<sup>2</sup> K. LANDSTEINER and M. W. CHASE, J. Exp. Med. 71, 237 (1940).

<sup>3</sup> S. RAFFEL and J. E. FORNEY, J. Exp. Med., 88, 485 (1948).



Chemical constituents of *M. tuberculosis* var. *hominis*

(Compiled from the work of ANDERSON, SEIBERT, LEDERER and others. References are given in the text)

*Italics* (e. g. *Phthioic Acid*) indicate that the substances possess activity as described in the text

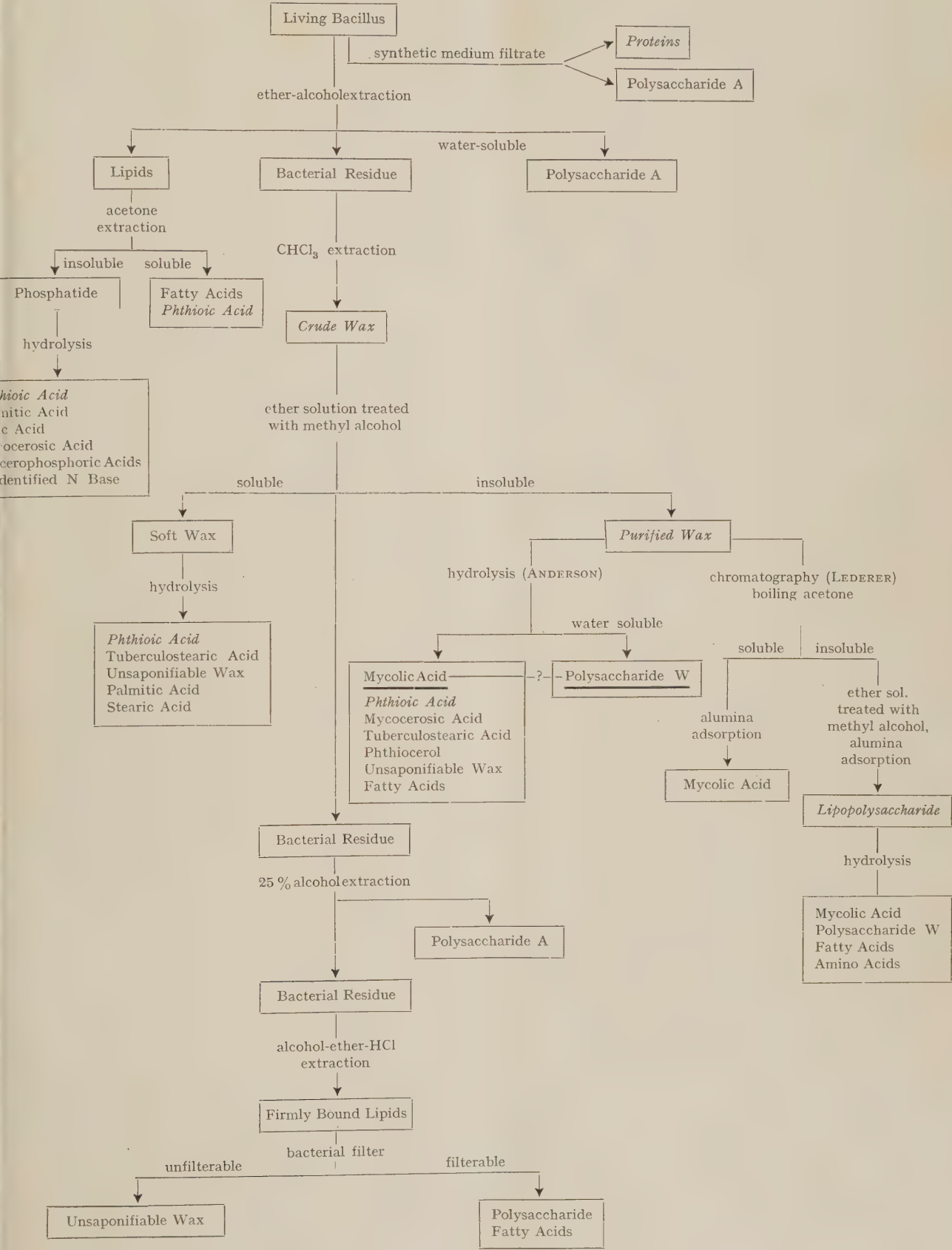




Table I

Comparison of Allergic and Immune Responses in Guinea Pigs Sensitized with B.C.G. and with Tuberculo-protein-Wax

Group No.	Treatment of animals	Average reactions to O.T.	Average Koch reactions	Tuberculous involvement of organs				
				Liver	Spleen	Lungs	Tr. br. nodes	Ing. nodes
1	B.C.G.	13.0 2.0*	6.0 0.9*	0	0	±	±	+
2	Protein-wax	12.8 1.9	4.1 0.6	2+	3+	2+	3+	4+
3	None	0 0	0 0	2+	4+	3+	3+	4+

\* The first figure represents mm diameter of the reaction, the second figure estimated mm raised.

other striking cellular alterations<sup>1</sup> may be related to its influence in hypersensitivity. This possibility does not appear to be well founded however, since another tubercle bacillary constituent, the phosphatide, has an even more marked effect in altering cells, to the extent of simulating tubercles, without in any way influencing the hypersensitive response<sup>2</sup>. Furthermore, many infectious agents with no analogous cytologic influence whatever are nevertheless capable of inducing allergy of the same type.

(c) *Acquired Resistance*.—The last of the host responses to be considered is the acquisition of relative resistance to the tubercle bacillus as the result of its residence in the body. There is a good deal of evidence for such an acquisition in man as well as in laboratory animals<sup>3</sup>. There is however as yet no answer as to the nature of the bacillary substance which may be responsible for its induction, nor whether this may be a fixed bacillary constituent or a diffusible product of bacterial metabolism. We have unsuccessfully attempted to induce resistance with all the constituents shown in the chart, alone and in various combinations, as well as with substances obtained from the bacillary cells in other ways<sup>4</sup> (and unpublished data). Nor do we have a definitive reply to the question of the mechanism of this resistance, although LURIE's experiments<sup>5</sup> indicate that alterations in humoral as well as cellular (macrophagic) properties may both contribute to acquired defense.

Although our own experiments have supplied no positive information on this question, there is certain negative information which may warrant brief description. For many years it has been contended that the allergic state itself is the chief instrument of acquired resistance (discussed in ref. 3). The arguments in favor of this view have been rational ones; first, that animals when they acquire resistance concomitantly

develop allergy, and secondly, that the intensified inflammation which occurs in the tissues of the sensitive subject as the result of contact with bacilli endows the body in higher than usual degree with the localizing mechanism generally associated with the inflammatory reaction. This view infers that a response which can be protective under ordinary circumstances should be even more effective when it is extraordinarily intensified, as at the site of the allergic reaction.

This concept has been seriously questioned in the past 20 years by the studies of RICH<sup>1</sup> and others<sup>2</sup>. Thus, it has been shown that an intense inflammation may lose the ability to localize foreign particles because of the rapid sweep of fluids through the tissues, and indeed may serve to disseminate bacteria from an initial focus. More specifically, it has been demonstrated<sup>2</sup> that *desensitization* of the animal resistant to tuberculosis does not diminish its immunity, although certain peculiar events may occur to interfere with the clear interpretation of such experiments<sup>3</sup>.

Upon purely immunological grounds it seems logical to put the question of the relationship of allergy to resistance in this way: Does the immunological response to tuberculo-protein and wax endow the body with resistance as well as allergy to the tubercle bacillus? The use of these isolated components permits an appraisal of the question unencumbered by responses to other bacillary components as is the case when entire bacilli are employed for vaccination. We have carried out several repeated experiments to answer this question with results of the kind described below<sup>4</sup>.

Three groups of guinea pigs were chosen for these observations. One group was immunized with B.C.G. vaccine, the second received at the same times appropriate doses of tuberculo-protein and purified wax, and the third remained without treatment. At the end of the vaccination period the three groups of animals were tested with Old Tuberculin. The results of such

<sup>1</sup> K. C. SMITHBURN and F. R. SABIN, *J. Exp. Med.*, **68**, 641 (1938); F. R. SABIN, *Amer. Rev. Tuberc.*, **44**, 55 415 (1941).

<sup>2</sup> S. RAFFEL, *J. Inf. Dis.*, **82**, 267 (1949).

<sup>3</sup> A. R. RICH, *The Pathogenesis of Tuberculosis* (Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1944); M. PINNER, *Pulmonary Tuberculosis in the Adult* (Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1945).

<sup>4</sup> S. RAFFEL, *Amer. Rev. Tuberc.*, **54**, 564, (1946); S. RAFFEL, *J. Inf. Dis.*, **82**, 267 (1948).

<sup>5</sup> M. B. LURIE, *J. Exp. Med.* **75**, 247 (1942); M. B. LURIE, *J. Exp. Med.*, **69**, 555 (1939).

<sup>1</sup> A. R. RICH and H. A. McCORDOCK, *Bull. J. Hopk. Hosp.* **44**, 273 (1929); A. R. RICH, *Bull. J. Hopk. Hosp.* **47**, 189 (1930).

<sup>2</sup> H. ROTHSCILD, J. S. FRIEDENWALD, and C. BERNSTEIN, *Bull. J. Hopk. Hosp.* **54**, 232 (1934).

<sup>3</sup> C. E. WOODRUFF and R. G. KELLY, *J. Immunol.* **45**, 79 (1942).

<sup>4</sup> S. RAFFEL and W. HANNS, manuscript in preparation.



tests in one experiment are shown in Table I. Immediately after the 48-hour readings had been made, all groups were challenged, in exactly the same way, with virulent human tubercle bacilli injected in part subcutaneously, in part intracutaneously, in the region of the groin. The intracutaneous injections were made in order to facilitate observations of the possible occurrence of KOCH reactions, and these readings are also shown in Table I. It is apparent that at the time of infection, the B.C.G. immunized and the protein-wax treated animals showed very similar levels of tuberculous allergy, as judged by cutaneous reactivity to Old Tuberculin and to living virulent bacilli as well. Eight weeks after infection all the guinea pigs of the three groups were sacrificed for pathological examination. At this point the similarity between the two vaccinated groups ceased. The protein-wax sensitized group which had been in a class with the B.C.G. vaccinated in respect to allergic reactivity, is seen to be, in respect to resistance, in a class with the untreated infection controls. We have concluded from such experiments that the bacillary constituents which engender allergy are not the same as the bacillary factors which induce resistance to tuberculosis, and as a corollary, that tuberculous allergy and tuberculous resistance are not synonymous.

#### *Zusammenfassung*

Die drei grundsätzlichen Reaktionsweisen des Wirtes auf den Tuberkelbazillus, nämlich die Tuberkelbildung,

der allergische Zustand und die erworbene Resistenz, werden im Hinblick auf die chemischen Bestandteile des Tuberkelbazillus erörtert.

Die Zellveränderungen, die zur Tuberkelbildung führen, können durch das isolierte Phosphatid des Bazillus hervorgerufen werden. Der aktive Bestandteil dieses Stoffes ist die Phthiolsäure, mit der Formel  $C_{26}H_{52}O_2$ .

Der «verzögerte», durch den Tuberkelbazillus verursachte Allergietypus kann auch durch andere Infektionserreger erzeugt werden. Bei der Tuberkulose wird diese Wirtsreaktion durch ein bazilläres Antigen, ein Protein, bestimmt, welches zusammen mit einer aus dem Organismus extrahierten Fraktion aus «gereinigtem Wachs» wirkt. Der spezifische, in diesem Sinn aktive Bestandteil des Wachses scheint ein Lipopolysaccharid zu sein. Die Merkmale der «verzögerten» Allergie, die sie von der «anaphylaktischen» Überempfindlichkeit unterscheiden, werden beschrieben. Mit diesen Unterschieden läßt sich beweisen, dass die durch Tuberkelprotein und Wachs hervorgerufene Allergie mit derjenigen der Tuberkuloseinfektion identisch ist. Der Wachbestandteil des Bazillus kann von nicht tuberkulösen bazillären Antigenen dazu benützt werden, um analoge «verzögerte» Überempfindlichkeiten hervorzurufen.

Die erworbene Resistenz gegen den Tuberkelbazillus kann heutzutage keinem der bekannten chemischen Bestandteile des Bakteriums zugeschrieben werden. Es werden jedoch Beweise angeführt, daß die Resistenz nicht gleichbedeutend mit dem allergischen Zustand ist. Dieser kann durch Behandlung von Versuchstieren mit isoliertem Tuberkelprotein und Wachs hervorgerufen werden. Die auf diese Weise sensibilisierten Tiere zeigen aber keine erhöhte Immunität gegenüber virulenten Bazillen.

## Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

### Recherches sur la biosynthèse des caroténoïdes chez un Microorganisme

#### *Mise en évidence des précurseurs*

Les Champignons filamenteux, et particulièrement certaines Mucorinées contiennent des quantités élevées de caroténoïdes et se prêtent bien à l'étude de la biosynthèse de ces pigments. On ne sait que peu de chose à ce sujet.

En 1935, nous avons étudié les conditions de formation de ces pigments chez *Phycomyces Blakesleeana*<sup>1</sup>. Le

$\beta$ -carotène s'est révélé être le caroténoïde le plus abondant, sinon le seul; l'extrait de thalle manifeste une activité vitaminique A nette chez le rat carencé<sup>1</sup>. KARRER et KRAUSE-VOITH confirment que le  $\beta$ -carotène est le caroténoïde essentiel de *Phycomyces*<sup>2</sup>. D'ailleurs celui-ci a été obtenu à l'état cristallisé<sup>3</sup>. Récemment GARTON, GOODWIN et LIJINSKY<sup>4</sup> apportent quelques

<sup>1</sup> W.H. SCHOPFER et A. JUNG, *id.* 120, 1093 (1935).

<sup>2</sup> P. KARRER et E. KRAUSE-VOITH, *Helv. chim. acta* 802, 31 (1947).

<sup>3</sup> W.H. SCHOPFER et V. KOCHER, *Actes Soc. helv. sci. nat.* 320 (1936).

<sup>4</sup> G.A. GARTON, T.W. GOODWIN, and W. LIJINSKY, *Biochem. J.* 46, no. 5, 35 (1950).

<sup>1</sup> W.H. SCHOPFER, *C. r. Soc. Biol. Paris* 118, 3 (1935).



données nouvelles relatives à la production des caroténoïdes chez *Phycomyces* cultivé sur milieu normal, en présence de glucide.

L'affirmation que le  $\beta$ -carotène est le seul caroténoïde de *Phycomyces* doit être corrigée. Nous venons de constater que la composition en caroténoïdes varie selon la souche et le milieu. La souche Z, sexe(-), contient 5 caroténoïdes décelables par adsorption sur  $Al_2O_3$ . Cette question donnera lieu à un travail ultérieur.

Chez les microorganismes étudiés la production de caroténoïdes est parallèle à la croissance. Les facteurs inhibant la production de caroténoïdes affectent également le développement. Dans le but d'étudier de la manière la plus pratique la biosynthèse des caroténoïdes chez *Phycomyces*, nous avons constitué un milieu permettant un développement appréciable, mais empêchant complètement la production de caroténoïdes; le glucose y est remplacé par du lactate d'ammonium (milieu II).

I. Milieu habituel, carotinogène	II. Milieu non carotinogène
Glucose Asparagine $KH_2PO_4$ $MgSO_4$ Vitamine B <sub>1</sub>	Lactate d'ammonium Lactate de magnésium. $KH_2PO_4$ $MnSO_4$ Vitamine B <sub>1</sub>

Sur le milieu II, le Champignon se développe, quoique faiblement. Ni le thalle submergé, ni les sporangio-phores et les jeunes sporanges ne contiennent de pigments extractibles par l'éther de pétrole. Il se forme également moins de pigment de membrane vert caractéristique de ce Champignon<sup>1</sup>.

Le microorganisme accomplit ses métabolismes glucidique, lipidique et protidique à partir du lactate d'ammonium. L'examen cytologique et cytochimique du contenu des hyphes suggère une modification du métabolisme lipidique; sur milieu glucosé les graisses sont présentes sous forme de nombreux globules jaunes, contenant les caroténoïdes, souvent volumineux et remplissant les hyphes du thalle submergé; sur milieu à base de lactate d'ammonium, les globules sont plus petits, dispersés; on décèle dans les hyphes des grumeaux

amorphes ayant les caractéristiques des matières grasses.

En ajoutant diverses substances au milieu II, non carotinogène, nous pouvons facilement reconnaître celles qui sont favorables à la biosynthèse des caroténoïdes. Le tableau ci-dessous indique les résultats obtenus dans une série d'expériences effectuées avec la souche Z, sexe(-) (voir tableau).

Les conclusions suivantes peuvent être tirées de ces expériences:

1° L'adjonction au milieu à base de lactate, d'acétate de sodium améliore le développement.

2° Elle ne modifie pas notablement la lipogenèse considérée du point de vue quantitatif.

3° L'acétate de sodium déclanche une forte carotino-genèse, comparable à celle produite en présence de glucose.

4° Avant que la culture ait atteint son complet développement il y a destruction des caroténoïdes produits et le taux relatif diminue considérablement. Le taux maximum est atteint plus rapidement en présence de glucose (0,960 au 5<sup>e</sup> jour) qu'en présence d'acétate de sodium (0,803 au 7<sup>e</sup> jour).

5° L'acétate peut être considéré comme un précurseur des caroténoïdes de *Phycomyces*.

A part divers hydrates de carbone, les substances suivantes sont actives: le pyruvate de sodium, le butyrate de sodium à doses faibles, l'acide palmitique, l'acide tartrique et l'acide citrique. La glycérine, l'acétone et l'ester de l'acide  $\beta$ -méthyl-crotonique sont inefficaces.

Une relation détaillée de l'activité d'un grand nombre de substances étudiées sera faite ailleurs. L'acétate de sodium est la plus active.

Il est intéressant de relever que l'acétate de sodium est un précurseur de l'isoprène dans les cultures de tissus de *Parthenium argentatum*<sup>1</sup> et que, d'autre part, l'oxydation permanganique en milieu alcalin du carotène livre 4 molécules d'acide acétique fournies par la chaîne isoprénique (KARRER).

Ces recherches ont été effectuées avec l'aide de la «Fritz Hoffmann-La Roche Stiftung zur Förderung der wissenschaftlichen Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz» à laquelle nous exprimons notre gratitude.

W.H. SCHOPFER et E.C. GROB

Institut et jardin botaniques de l'Université de Berne, le 25 août 1950.

<sup>1</sup> W.H. SCHOPFER et S. BLUMER, *Protoplasma* 34, 524 (1940).

<sup>1</sup> J. BONNER et B. ARREGUIN, *Arch. Biochem.* 21, 109 (1949).

Age de la culture, en jours	4	5	6	7	8	9
1° Milieu II, lactate d'ammonium, sans adjonction						
Poids de la culture, mg . . . . .	1,67	2,56	3,5	4,75	5,65	6,86
Lipides totaux, %* . . . . .	—	—	—	9,25	9,3	6,6
Caroténoïdes . . . . .	0	0	0	0	0	0
2° Milieu II avec 1% de glucose						
Poids de la culture, mg . . . . .	42,4	93,4	111	117	120	121
Lipides totaux, % . . . . .	13,5	20,1	22,9	21,6	22,1	19,8
Caroténoïdes** . . . . .	0,406	0,960	0,706	0,610	0,228	0,575
3° Milieu II avec 1% d'acétate de sodium						
Poids de la culture, mg . . . . .	5,9	16,2	19,3	29,9	20,8	22,6
Lipides totaux, % . . . . .	6,7	5,2	6,8	7,6	6,0	6,0
Caroténoïdes . . . . .	0	0,086	0,113	0,803	0,420	0,360

\* Lipides totaux, extraits par le méthanol et l'éther de pétrole.

\*\* Les chiffres indiquent le coefficient d'extinction fourni par un volume déterminé et constant d'un extrait de thalle sec, pulvérisé et homogénéisé; l'extrait contient les caroténoïdes de 836 mg secs de thalle dans de l'éther de pétrole (cuvette de 1 cm, filtre Ilford 601).



## Summary

The biogenesis of the carotenoids in *Phycomyces* is studied as function of the medium. The  $\beta$ -carotene being the essential carotenoid of this fungi. A medium is prepared in which glucose and asparagine are replaced by ammonium lactate. In this medium there is a development but no formation of carotene. The presence of sodium acetate gives a normal carotenoid formation. The acetate reacts like a precursor of the carotene of *Phycomyces*.

### Die Aminosäure-Zusammensetzung der Kapselsubstanz der Milzbrandbazillen und der serologisch identischen spezifischen Substanz des *Bacillus mesentericus*

Schon im Jahre 1937 haben IVÁNOVICS und BRUCKNER<sup>1,2</sup> gezeigt, daß die immunspezifische Kapselsubstanz der Milzbrandbazillen und die serologisch identische spezifische Substanz verschiedener, der Mesentericus-Gruppe angehörender Sporenträger in chemisch einheitlicher Form abgetrennt werden kann. Diese Substanz stellt ein aus *d*-(-)-Glutaminsäureresten aufgebautes Polypeptid dar, welches in hoher Ausbeute zu reiner, als Naturprodukt nicht bekannter *d*-(-)-Glutaminsäure hydrolysiert werden konnte<sup>3</sup>. BRUCKNER und KOVÁCS OSKOLÁS<sup>3</sup> haben später aus den Analysenwerten der Kapselsubstanz, sowie dem Ausbleiben der Biuretreaktion und dem Charakter der Strömungsdoppelbrechung der Kapselsubstanzlösung den Schluß gezogen, daß im Polypeptid die *d*-Glutaminsäurereste durch  $\alpha$ -Peptidbindungen verketten sind, stellenweise jedoch (etwa bis zu 13–15 %) die  $\gamma$ -ständigen Carboxylgruppen nicht frei, sondern zu Pyrrolidonringen kondensiert vorliegen dürften. Gleichzeitig wurde auch die Vermutung ausgesprochen, daß das Polypeptid außer *d*-Glutaminsäure anscheinend keine anderen Aminosäuren enthält.

HANBY und RYDON<sup>4</sup> schienen die letzterwähnten Untersuchungen übersehen zu haben, und werfen die Frage der Konstitution des nativen *d*-(-)-Glutaminsäure-Polypeptids erneut auf. Auf Grund ihrer Untersuchungen gelangen sie zu der Feststellung, daß in dem kettenförmigen Polypeptidmolekül  $\gamma$ -Bindungen tatsächlich vorkommen, doch führen sie dies nicht auf das Auftreten von Pyrrolidonringen zurück. Im kettenförmigen Polypeptidmolekül wurde die Gegenwart von  $\gamma$ -Bindungen neuerdings auch von anderer Seite bestätigt<sup>5</sup>.

BRUCKNER und seine Mitarbeiter<sup>2</sup> konnten bei ihren Untersuchungen auf verhältnismäßig einfachem präparativem Wege eine 86 %ige Ausbeute an *d*-(-)-Glutaminsäure erzielen, während HANBY und RYDON<sup>4</sup> mit Hilfe von analytischen Methoden nachgewiesen haben, daß  $99,5 \pm 1,5$  % des Gesamtstickstoffs der Kapselsubstanz in Form von Glutaminsäure vorliegt. Die bei-

den letzten Autoren untersuchten das acetylierte Hydrolysat der Kapselsubstanz auf fremde Bestandteile durch Verteilungs-Chromatographie an einer Silicagel-Kolonne. Es ließ sich hierbei die Gegenwart einer ganzen Reihe von Aminosäuren ausschließen. Etwaiges Glycin und Asparaginsäure sind jedoch bei dieser Untersuchungsmethode nicht nachweisbar. Ich habe daher zwecks Feststellung der genauen qualitativen Aminosäure-Zusammensetzung der Kapselsubstanz die schonendere zweidimensionale Papierchromatographie<sup>1</sup> verwendet, die den Nachweis sogar von Spuren fremder Aminosäuren ermöglicht. Mein Verfahren war folgendes:

Von im Vakuum getrockneter Kapselsubstanz wurden 63,5 mg mit 1 cm<sup>3</sup> 2 *N* HCl in einem Schießrohr 5 Stunden lang auf 120° erhitzt, dann die Salzsäure in der üblichen Weise in Vakuum vertrieben und der Rest auf 2,0 cm<sup>3</sup> verdünnt. Ungefähr 0,004 cm<sup>3</sup> dieser Lösung wurde auf einem «Schleicher & Schüll Nr. 604»-Papier in der einen Richtung mit Phenol-Wasser System (+ 0,1 % NH<sub>3</sub>, KCN und Cupron), in der anderen mit Butanol-Wasser-Eisessig System aufsteigend chromatographiert. Die Lösungsmittelfront legte in beiden Richtungen eine Strecke von je 25 cm zurück. Nach dem Trocknen und Färben mit Ninhydrin erschien auf dem Chromatogramm nur ein einziger runder Fleck, der sich mit Glutaminsäure identifizieren ließ. Die Gegenwart von Pyrrolidonsäure ließ sich nicht nachweisen<sup>2</sup>. Da jedoch während der Säure Hydrolyse eine Zyklisierung der Glutaminsäure, wie auch das Öffnen ursprünglich etwa vorhandener Pyrrolidonringe nicht von vornherein ausgeschlossen bleibt, erlaubt die verwendete Methode keine Aussage bezüglich der Pyrrolidonsäure im Polypeptid. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache kann auf Grund des erzielten Ergebnisses, in voller Übereinstimmung mit BRUCKNER und seinen Mitarbeitern<sup>3</sup>, festgestellt werden, daß die Kapselsubstanz ein vollständig aus Glutaminsäure-Bausteinen bestehendes Polypeptid ist.

Ich möchte Herrn Prof. BRUCKNER für sein Entgegenkommen, sowie Herrn Prof. IVÁNOVICS für die zur Verfügung gestellte Kapselsubstanz auch an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen.

G. PONGOR

Organisch-chemisches Institut der Universität Budapest, den 16. Mai 1950.

## Summary

The capsular substance of *Bac. anthrax* and the serologically identical specific substance produced by *Bac. mesentericus* were investigated by two-dimensional paper-chromatography of the hydrolysate. The earlier statement<sup>3,4</sup> that this substance is a polypeptide composed exclusively of *d*-glutamic acid units was fully confirmed.

<sup>1</sup> Vgl. A. J. WOJWOD, J. Gen. Bacteriology 3, 312 (1949).

<sup>2</sup> Vgl. C. E. DENT, Bioch. J. 43, 178 (1948). – J. AWAPARA, J. Biol. Chem. 178, 113 (1949).

<sup>3</sup> G. IVÁNOVICS und V. BRUCKNER, Naturwissenschaften 25, 250 (1937); Z. Immunitätsforschung 90, 304; 91, 175 (1937); 93, 119 (1938); Z. phys. Chem. 247, 281 (1937). – V. BRUCKNER, G. IVÁNOVICS und M. KOVÁCS OSKOLÁS, Magyar Chem. Folyóirat 45, 131 (1939); vgl. Chem. Zentr. 1, 3280 (1940) und Chem. Abstr. 34, 3766 (1940). – V. BRUCKNER und G. KOVÁCS OSKOLÁS, Acta Univ. Szegediensis (Chem. et Phys.) 1, 144 (1943); Chem. Abstr. 41, 7423f (1947).

<sup>4</sup> W. E. HANBY und H. N. RYDON, Bioch. J. 40, 297 (1946).

<sup>1</sup> G. IVÁNOVICS und V. BRUCKNER, Naturwissenschaften 25, 250 (1937); Z. Immunitätsforschung 90, 304; 91, 175 (1937); 93, 119 (1938); Z. phys. Chem. 247, 281 (1937). – V. BRUCKNER, G. IVÁNOVICS und M. KOVÁCS OSKOLÁS, Magyar Chem. Folyóirat 45, 131 (1939); vgl. Chem. Zentr. 1, 3280 (1940) und Chem. Abstr. 34, 3766 (1940).

<sup>2</sup> G. IVÁNOVICS und V. BRUCKNER, Z. phys. Chem. 247, 281 (1937). – V. BRUCKNER, G. IVÁNOVICS und M. KOVÁCS OSKOLÁS, Magyar Chem. Folyóirat 45, 131 (1939); vgl. Chem. Zentr. 1, 3280 (1940) und Chem. Abstr. 34, 3766 (1940).

<sup>3</sup> V. BRUCKNER und M. KOVÁCS OSKOLÁS, Acta Univ. Szegediensis (Chem. et Phys.) 1, 144 (1943); Chem. Abstr. 41, 7423f (1947).

<sup>4</sup> W. E. HANBY und H. N. RYDON, Bioch. J. 40, 297 (1946).

<sup>5</sup> F. HAUROWITZ und F. BURSA, Bioch. J. 44, 509 (1949).



## Schädigung und sphärische Umwandlung der Erythrozyten bei der Hämagglutination

Es ist erstaunlich, daß in der Literatur kein tiefer greifendes Studium über die Formveränderungen der Erythrozyten bei der Hämagglutination vorliegt. Nach COCA<sup>1</sup> wird die echte Hämagglutination durch eine schwere Schädigung sowie durch Fusion der Erythrozyten gekennzeichnet, während die Blutkörperchen bei der Pseudoagglutination unverändert bleiben und häufig in Form von Rollen angeordnet sind. Dieser Auffassung konnten wir uns nicht anschließen, da einer von uns<sup>2</sup> mit SCHWARZWEISS beobachtete, daß bei der Agglutination der Schafererythrozyten durch das Serum von *Mononucleosis infectiosa*-Kranken die Zellen keine Schädigung erleiden, obwohl diese serologische Probe als echte Agglutination aufgefaßt wird. Demgegenüber konnte bei der Agglutination der Schafererythrozyten durch Kaninchen-Immunserum regelmäßig eine schwere Schädigung der Zellen nachgewiesen werden. Wir berichten in dieser Arbeit über die Faktoren, von denen das Vorkommen oder das Fehlen der Zellschädigung bei der Hämagglutination abhängig ist.

Die Erythrozyten wurden aus defibriniertem Blut gewonnen und dreimal mit 0,85% NaCl Lösung gewaschen. Zur Agglutination wurde aus den abzentrifugierten Erythrozyten eine 1% Suspension bereitet und 0,2 cm<sup>3</sup> dieser Suspension mit 0,1 cm<sup>3</sup> der verschiedenen Serumverdünnungen vermischt. Wenn die Wirkung einer anderen Substanz (Albumin, Lipoid usw.) auf die Agglutination durch Serum untersucht werden sollte, wurde diese Substanz auch in 0,1 cm<sup>3</sup> Vol. zugefügt, wobei aber nur 0,1 cm<sup>3</sup> einer 2% Erythrozyten-Suspension verwendet wurde. Auf solche Weise konnte die Konzentration der Erythrozyten gleichgehalten und die Verdünnung des Serums bzw. die Konzentration anderer Substanzen jeweils auf die zugegebene Menge und nicht auf die Gesamtverdünnung bezogen werden. Die Röhrchen wurden nach gründlichem Schütteln bei Zimmertemperatur gehalten. Zur mikroskopischen Untersuchung wurde nach verschiedenen Zeitintervallen und nach Aufschütteln der agglutinierten Zellen 0,05 cm<sup>3</sup> des Gemisches auf einen Objektträger überführt und mit Deckglas bedeckt sofort untersucht. Sowohl der Objektträger, wie das Deckglas wurden mit Seidenpapier trocken gereinigt. Die Zentrifugierprobe wurde bloß zur Feststellung des Agglutinititers parallel eingestellt.

Da die mikroskopische Untersuchung in einer Suspension unter Deckglas vorgenommen wurde, mußten wir vor Augen halten, daß die Erythrozyten unter diesen Umständen, wie PONDER<sup>3</sup> sowie FURCHGOTT und PONDER<sup>4</sup> nachgewiesen haben, auch ohne Hämagglutination interessante Formveränderungen aufweisen können. Entsprechend ihrer Beobachtung werden die scheibenförmigen Blutkörperchen nach Abdecken mit dem Deckglas in regelmäßige Kugelformen überführt. Die rasche sphärische Umwandlung der scheibenförmigen Erythrozyten erfolgt innerhalb 1–3 Sekunden, wenn die Schichthöhe zwischen Objektträger und Deckglas weniger als 50  $\mu$  beträgt und wird auf die folgenden zwei Faktoren zurückgeführt: Erhöhung des  $p_H$  bis 9,2–9,3, und Absorption einer unbekannten antisphärischen Substanz von der Oberfläche der Erythrozyten durch das Deckglas. Die sphärische Umwandlung bleibt aus, wenn an Stelle des gewöhnlichen ein Quarz-Objektträger und an Stelle des Deckglases «Plexiglas» zum Abdecken verwendet wird. Die Scheibenform bleibt aber auch in einem mit gewöhnlichem Deckglas hergestellten Präparat erhalten, wenn Albumin (antisphärischer Faktor) zugegeben wird, hingegen werden die Erythrozyten nach Zugabe von Lezithin (sphärischer Faktor) bereits im Reagenzglas in Kugelform überführt. Wenn die Versuchsbedingungen so gewählt werden, daß die sphärische Umwandlung langsam erfolgt, so entstehen unregelmäßig deformierte Scheiben- und Schlüssel- sowie Stechapfel-Formen

als Zwischenstufen der sphärischen Umwandlung. Unsere Untersuchungen bestätigten die Resultate von PONDER und FURCHGOTT, die aber die Beeinflussung der Erythrozyten durch Immunserum nicht untersucht hatten.

Abb. 1a zeigt die Kugelform der Schafererythrozyten unter gewöhnlichem Deckglas. Unter ähnlichen Bedingungen bleibt die Scheibenform erhalten, wenn Albumin zugesetzt wird (Abb. 1b). Das normale Serum (Mensch, Schaf, Kaninchen, Meerschweinchen) konserviert auf Grund unserer Untersuchungen infolge seines Albumingehaltes die Scheibenform, und zwar bis zu einer Serumverdünnung von 1:8–1:32. Es wäre somit zu erwarten, daß bei der Hämagglutination, zumindest in Gegenwart von wenig verdünntem Serum vorwiegend scheibenförmige Erythrozyten anzutreffen seien. Abb. 1c zeigt hingegen, daß die durch das unverdünnte Mononukleose-Serum «Str» agglutinierten Schafererythrozyten ohne irgendwelche Deformation ausschließlich Kugelformen aufweisen. Dieses Serum (der Kürze halber als M-Serum bezeichnet) stammt aus einem Fall von typischer *Mononucleosis infectiosa* und agglutiniert die Schafererythrozyten bis zu einer Konzentration von 1:512. Demgegenüber bleiben die mit einem Kaninchen-Immunserum agglutinierten Erythrozyten bis zu einer Serumverdünnung von 1:32 scheibenförmig und weisen eine merkliche Deformation auf (Abb. 1d).

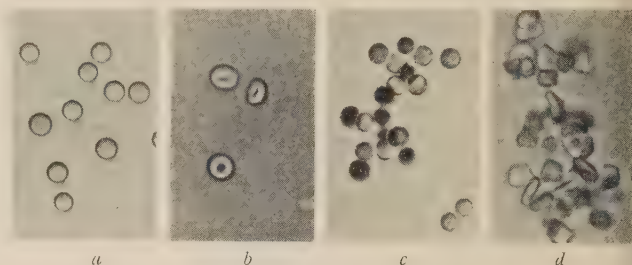


Abb. 1.

Da wir bei der Agglutination des M-Serums das Vorhandensein eines sphärischen Faktors vermuteten, untersuchten wir verschiedene Erythrozyten- sowie Organextrakte auf ihre sphärische Wirkung. Die Erythrozytenextrakte, die einer von uns gemeinsam mit SCHWARZWEISS<sup>1</sup> hergestellt hatte, waren diesbezüglich vollkommen wirkungslos. Demgegenüber zeigte einer unserer Organextrakte (alkoholischer Rinderherzextrakt, nach vorheriger Azetonextraktion gewonnen) auf Trockensubstanz berechnet eine bessere sphärische Wirkung als ein kommerzielles Lezithinpräparat. In der weiteren Arbeit verwendeten wir unseren Extrakt unter der Bezeichnung: Lezithinpräparat und eine sogenannte Fraktion V des Rinderplasmas der «Armour Laboratories», Chicago, als Albuminpräparat.

Wie aus Abb. 2 zu entnehmen ist, besteht ein lineares Verhältnis zwischen dem antisphärischen Faktor Albumin und dem sphärischen Faktor Lezithin. Wenn weniger Lezithin im Gemisch vorhanden ist als diejenige Menge, die intakte Kugelformen hervorbringt, erscheinen stechapfelförmige oder scheibenförmige, stark deformierte Erythrozyten. Erst wenn die Albuminkonzentration des Gemisches in einem beträchtlichen Übergewicht vorhanden ist, sind intakte scheibenförmige Erythrozyten zu sehen. Die Streuung sowie die Verschiebung der Kurve I gegenüber Kurve II ist darauf zurückzuführen, daß die Erythrozyten bei

<sup>1</sup> A. F. COCA, J. Immunol. 20, 263 (1931).

<sup>2</sup> J. TOMCSIK und H. SCHWARZWEISS, Schweiz. Z. Path. und Bakt. 11, 438 (1948).

<sup>3</sup> E. PONDER, Brit. J. exper. Biol. 6, 387 (1928). – J. exper. Biol. 13, 298 (1936).

<sup>4</sup> R. F. FURCHGOTT, J. exper. Biol. 17, 30 (1940). – R. F. FURCHGOTT und E. PONDER, J. exper. Biol. 17, 117 (1940).

<sup>1</sup> J. TOMCSIK und H. SCHWARZWEISS, Proc. Soc. exper. Biol. and Med. 69, 562 (1948).



Kurve I nicht aus frischem Blut stammten, doch zeigten sie ein gleichsinniges Verhalten.

Auf Grund dieser Beobachtungen wollten wir abklären, in welcher Weise eine Albumin- bzw. Lezithinzugabe die verschiedenartigen Zellveränderungen, die bei der Hämagglutination durch Antikörper verursacht werden, zu beeinflussen vermag. Einige der diesbezüglichen Versuche sind in Abb. 3 zusammengefaßt.

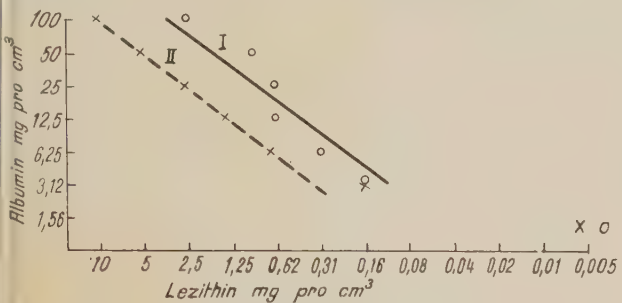


Abb. 2.  
Die sphärische Wirkung des Lezithins bei verschiedenen Albuminkonzentrationen.

Das Kaninchen-Immunserum agglutiniert die Schaferythrozyten bis 1:1024 und ruft ihre Deformation in verschiedenem Grade auch noch in 1:256 Verdünnung hervor. Die Deformation der Zellen ist bis 1:32 Serumverdünnung sehr stark, und in diesem Bereiche tritt eine Fusion der Erythrozyten bereits in 1–2 Stunden nach Einstellung der Agglutination auf. Wenn aber entweder der sphärische Faktor, das Lezithin, oder aber der antisphärische Faktor, das Albumin, in genügend hoher Konzentration zugesetzt wird, verschwindet bei gleichbleibendem Agglutinationstiter die Deformation, und die Blutkörperchen werden entweder in der sphärischen oder aber in der Scheibenform stabilisiert.

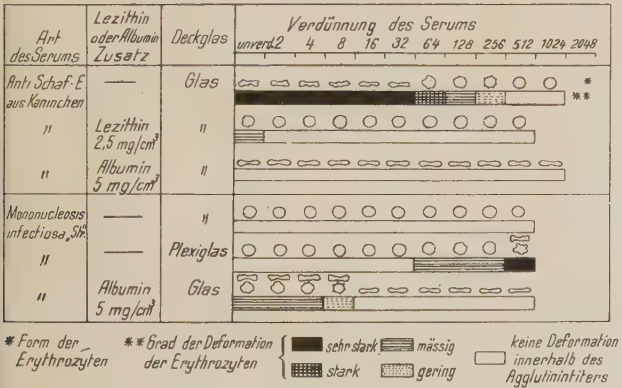


Abb. 3.  
Einfluß des Lezithins bzw. des Albumins auf die Zelldeformation bei der Hämagglutination.

Das M-Serum verursacht innerhalb seines Agglutinintiters bis zu einer Verdünnung 1:512 keinerlei Deformation. Die Blutkörperchen sind bei der M-Agglutination unter Deckglas kugelförmig, und die Kugelform bleibt auch unter Flexiglas bis 1:32 Verdünnung des Serums erhalten. Wir mußten somit annehmen, daß das M-Serum einen sphärischen Faktor enthält, der die antisphärische Wirksamkeit des Serumalbumins vollkommen aufhebt und die Blutkörperchen in Kugelform stabilisiert. Diese Annahme wurde auch dadurch be-

stätigt, daß die Agglutinationen des M-Serums einen anderen morphologischen Charakter aufwiesen, sobald wir den einzelnen Serumverdünnungen die gleiche Menge einer pro cm³ 5 mg Albumin enthaltende physiologische NaCl-Lösung zugaben. Bei niedrigen Verdünnungen des M-Serums traten Deformationen auf, da die zugegebene Albuminmenge nicht hinreichte, die sphärische Wirkung des wenig verdünnten M-Serums vollkommen aufzuheben.

Es soll in einer Arbeit weiterhin darüber berichtet werden, inwieferne die beschriebenen Unterschiede zwischen M-Serum und Kaninchen-Immunserum gesetzmäßig vorkommen. Wir können auf Grund der hier berichteten Untersuchungen die Schlußfolgerung ziehen, daß im Gegensatz zur Ansicht von Coca nicht jede Hämagglutination durch Deformation und Fusion der Erythrozyten gekennzeichnet ist. Es wird außer durch die Art des Antikörpers viel mehr durch das Albumin-Lezithin-Gleichgewicht des Serums bestimmt, ob überhaupt Zellveränderungen bei der Hämagglutination entstehen.

J. TOMCSIK und C. A. SCHILD

Hygiene-Institut der Universität Basel, den 22. Juni 1950.

### Summary

The sheep erythrocyte antibodies produced in rabbits cause a marked deformity and a fusion of the red blood cells during their agglutination. These changes could be eliminated if albumin (antispherical factor) or lecithin (spherical factor) was added to the agglutinating serum. On the contrary several hemagglutinating sera obtained from human infectious mononucleosis cases do not cause any deformities of the sheep blood cells; they contain in surplus a spherical factor.

The general conception that the hemagglutinins induce invariably a deformation of the agglutinated red cells can not be maintained. The balance of a spherical and of an antispherical factor is more important in the production of red cell deformities than the antibodies themselves.

## Über die biologische Verwandtschaft zwischen Lama und Kamel

Durch die biologische Eiweißdifferenzierungsmethode mit Hilfe des UHLENHUTHSchen Präzipitationsverfahrens konnte ich feststellen, daß das Kamel (*Camelus dromedarius* und *Camelus bactrianus*) mit den anderen Wiederkäuern (wie z. B. Rind, Büffel, Schaf, Ziege) sowie mit den Einhufern (Pferd, Esel) in keiner verwandtschaftlichen Beziehung steht. Die zoologische Klassifikation der *Camelidae* als eine besondere Familie konnte ich also von diesem Gesichtspunkt aus bestätigt finden<sup>1</sup>. Deshalb kam ich auf den Gedanken, auch die Verwandtschaft zwischen Lama und Kamel auf diese Weise zu prüfen.

Verwandtschaftsreaktionen, d. h. die Fähigkeit der präzipitierenden *Sera*, in Eiweißlösungen verwandter Tiere Niederschläge zu erzeugen, wurden zwischen Mensch und Menschenaffen und zwischen verschiedenen Tierspezies innerhalb einer Reihe von Tiergruppen festgestellt<sup>2</sup>. Über die Verwandtschaftsreaktion zwischen

<sup>1</sup> Vgl. Ü. MASKAR, Über die Spezifität des Kamel-Antiserums, Bull. Fac. Med. Istanbul, Nr. 3, 12, 239 (1949).

<sup>2</sup> Vgl. auch: J. HOLLANDS, Über die Arbeitsweise bei der UHLENHUTHSchen Eiweißbestimmung, Inaug.-Diss., Gießen (1937), und R. v. OSTERTAG, Handbuch der Fleischschau, Bd. I, S. 414 (F. Enke, Stuttgart 1922); ferner J. BONGERT, Veterinäre Lebensmittelkontrolle, S. 93 (R. Schoetz, Berlin 1930).



Lama und Kamel fand ich jedoch in der mir zugänglichen Literatur keine Angabe.

Das Lamaserum<sup>1</sup> wurde wie in meinen früheren Untersuchungen über das Kameleiweiß<sup>2</sup> nach zwei Richtungen hin untersucht. Es wurde geprüft:

1. das Verhalten des normalen Lamaserums gegenüber den gegen Kameleiweiß und gegenüber dem Eiweiß anderer Tierarten hergestellten Antisera;
2. das Verhalten der normalen Sera von Kamel und anderen Tierarten gegenüber dem gegen Lamaeiweiß hergestellten Lama-Antiserum.

Zuerst habe ich normales Lamaserum mit hochwertigen Antisera von Kamel, Rind, Schaf, Ziege und Pferd nach dem von mir stets bevorzugten Überschichtungsverfahren nach ASCOLI zur Reaktion gebracht. In allen Röhrchen, in denen das Lamaserum mit Kamel-Antiserum in Berührung kam und in allen Kontrollröhrchen, in denen Antieiweiß-Sera der anderen Tiere mit ihren homologen Antigenlösungen geschichtet wurden, entstand innerhalb von 3 Minuten ein deutlicher, charakteristischer Präzipitationsring. In allen anderen Röhrchen, die mit dem Antiserum von Rind, Schaf, Ziege und Pferd beschickt waren, blieb die Berührungsfläche mit dem überschichteten Lamaserum auch nach 20–30 Minuten völlig klar. Die Wiederholung der Versuche ergab stets das gleiche Resultat. Nur das Kamel-Antiserum war imstande, das normale Lamaserum, d. h. Lamaeiweiß zu präzipitieren. Wie aus der Tabelle I zu ersehen ist, wurde der Effekt mit anderen Antieiweiß-Seren nicht erzielt.

Tabelle I

Antieiweiß-Sera in unverdünntem oder 1:5 verdünntem Zustand von	Überschichtet mit den 1:100 verdünnten normalen Sera von:	Präzipitation
Kamel	Kamel	+
	Lama	+
Rind	Rind	+
	Lama	—
Schaf	Schaf	+
	Lama	—
Ziege	Ziege	+
	Lama	—
Pferd	Pferd	+
	Lama	—

Zur Beantwortung der zweiten Frage habe ich durch intravenöse Einspritzung von normalem Lamaserum bei Kaninchen ein Antiserum von hohem Titer (1:20 000) hergestellt und dieses mit verdünntem normalem Serum (1:100) von Kamel, Rind, Büffel, Schaf, Ziege, Schwein und Pferd überschichtet. Wie der Tabelle II zu entnehmen ist, kam es nur in den Röhrchen mit Lama- bzw. Kamelserumlösung zu einer Präzipitation; in allen anderen Röhrchen dagegen war innerhalb von 30–40 Minuten keine Niederschlagsbildung zu erkennen. Auch bei Wiederholung der Untersuchung ergab das Lama-Antiserum nur mit dem homologen Lamaeiweiß und mit dem Kameleiweiß eine Fällung, nicht aber mit dem Eiweiß von Rind, Büffel, Schaf, Ziege, Schwein und Pferd.

<sup>1</sup> Das Lamaserum erhielt ich anlässlich meines Aufenthaltes in der Schweiz im Juni 1949 durch das freundliche Entgegenkommen der Direktion des Zoologischen Gartens in Basel. Auch danke ich Herrn Prof. Dr. A. PORTMANN (Zoologische Anstalt Basel) und Herrn Dr. E. LANG (Zoologischer Garten Basel) für die Förderung meiner Untersuchungen.

<sup>2</sup> Siehe Note 1, Seite 423.

Tabelle II

	Überschichtet mit den 1:100 verdünnten normalen Sera von	Präzipitation
Lama-Antiserum in unverdünntem oder 1:5 verdünntem Zustand	Lama	+
	Kamel	+
	Rind	—
	Büffel	—
	Schaf	—
	Ziege	—
	Schwein	—
	Pferd	—

Bezüglich des Eintritts und der Stärke der Präzipitationsreaktion ergab sich, daß bei homologen Versuchen (Lama-Antiserum + Lamaeiweiß, Kamel-Antiserum + Kameleiweiß) und bei Kreuzversuchen (Lama-Antiserum + Kameleiweiß, Kamel-Antiserum + Lama-Eiweiß) bei Verwendung unverdünnter Antisera die Fällungszeit und Reaktionsstärke im Verlaufe der ersten 3 Minuten fast identisch waren. Im weiteren Verlaufe ergab sich aber ein Unterschied in der Reaktionsstärke, indem die Niederschlagsschichten bzw. Schichtungsringe bei den Kreuzversuchen nur halb so hoch waren wie bei den Versuchen mit homologen Seren. Bei Verdünnung der Antisera auf 1:5 trat beim Kreuzversuch eine Verspätung der Fällung um 2 bis 3 Minuten ein, wobei die Niederschlagsmenge ebenfalls ein Verhältnis von 1:2 ergab. Auch dies ist bei Verwandtschaftsreaktionen allgemein der Fall.

Die von mir ausgeführten Präzipitationsreaktionen ergeben einwandfrei, daß Lama und Kamel zueinander in enger verwandtschaftlicher Beziehung stehen und von den anderen in Frage kommenden Tierarten, wie z. B. Rind, Büffel, Schaf, Ziege, Schwein und Pferd mit Sicherheit differenziert werden können. Diese Feststellung ist von naturwissenschaftlichem Interesse, weil sie einen neuen Beweis für die Sonderstellung der beiden Tierspezies als besondere Tierfamilie unter den Paarhufern bzw. unter den Wiederkäuern liefert. Sie ist aber auch von praktischer Bedeutung in allen Ländern, wo Lamas und Kamele geschlachtet werden oder in denen Fleischwaren aus Gegenden mit Lama- bzw. Kamelzucht eingeführt werden. Hier kann sie zur Ermittlung von Verfälschungen herangezogen und neben der bisherigen Kontrolle zur Identifizierung von Pferde- bzw. Einhuferfleisch auch zum Nachweis von Kamelidenfleisch verwendet werden.

ÜVEIS MASKAR

Institut für Histologie und Embryologie der Universität Istanbul, den 1. Juni 1950.

Summary

By means of the precipitation-reaction it has been fully proved that the albumen of the lama and the camel are closely related and that they can be clearly distinguished from the albumen of other animals as e.g. cattle, buffalo, sheep, goat, pig and horse. This evidence is of high scientific interest for it shows the exceptional position held by the two animal species among the ruminants and the cloven-hoofed animals respectively. This reaction is also of great practical value because it allows when controlling and testing meat and meat products to state the presence of lama and camel meat and to detect falsifications.



### Separation of Micromeres of the 16-Cell Stage of the Sea Urchin *Paracentrotus lividus*

A comprehensive study of the chemical and physiological properties of cells occurring naturally in suspensions together with other cells, or connected to other cells, is possible only after their separation in sufficiently great amounts. As a first step towards such a study of the three kinds of blastomeres in the sea urchin 16-cell stage, the macro-, meso- und micromeres, we have worked out the isolation of micromeres using a counter-streaming centrifuge, the principle of which was sketched by LINDAHL<sup>1</sup>. Among the three kinds of blastomeres of this stage, the micromeres deserve special interest. They represent the most vegetal material of the egg and exercise a decisive influence upon the development of other parts of the embryo<sup>2</sup>. Besides, they show several properties indicating a state of cytoplasm different from that of the other blastomeres<sup>3, 4</sup>.

The centrifuge in question makes possible the separation of differently sized particles having equal density. A higher density of the larger particles than of the smaller ones favours the separation, whereas the reverse counteracts it. However, the three kinds of blastomeres of the 16-cell stage of *Paracentrotus lividus* do not differ significantly as to their density<sup>5</sup>.

The egg suspensions, prepared in the usual way, were fertilized, and the eggs freed from the fertilization membranes by sucking them through bolting silk at a suitable rate<sup>6</sup>. Then the membranes and the jelly coats were washed away in a hand-driven centrifuge and the diluted suspensions gently shaken in rectangular troughs placed on a shaking machine<sup>4</sup>. When the first sixteen cell stages appeared, the eggs were twice washed with  $\text{Ca}^{++}$ -free sea-water and finally suspended in this medium containing  $2 \cdot 10^{-3}$  M of colchicine (cf. BEAMS and EVANS<sup>7</sup>) to stop further cleavage and loosen the blastomeres from each other. The latter purpose was forwarded by repeatedly pouring the suspension slowly from one vessel into another. Cells still sticking together were cautiously centrifuged down in the hand-driven centrifuge, and the supernatant suspension was introduced in the counter-streaming centrifuge, in which sea-water was used as a medium. The separation was carried on for 56 minutes<sup>8</sup> with 900 R.P.M. ( $n$ )<sup>9</sup> and a streaming velocity ( $V$ ) of 0.22 ml/sec. The greatest diameter ( $R$ ) of the separation chamber was 2.4 cm, and the distance ( $L$ ) between this and the theoretical point of the chamber cone was 18.0 cm. The chamber was mounted so, that this theoretical point was 24.0 ( $Z$ ) cm from the centre of rotation.

The greatest volume of densely packed micromeres obtained in an experiment was about 0.07 ml, but this volume could easily have been multiplied several times by injecting a greater amount of cell suspension into the counter-streaming centrifuge. However, the yield of micromeres was not 100 %, single ones remaining in

the fraction composed of macro- and mesomeres. This will be overcome by carrying on the separation for a longer time and using higher streaming velocities.

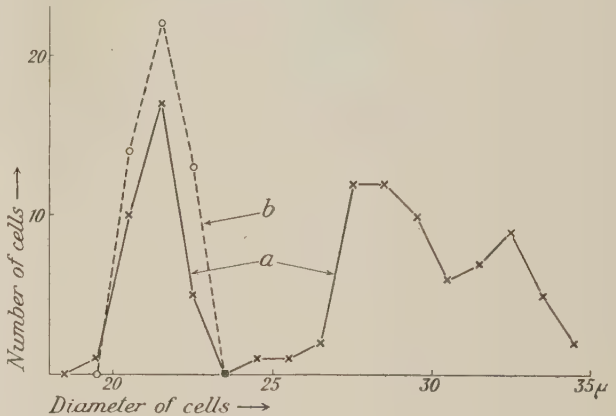


Fig. 1. – Ordinate: Numbers of blastomeres. Abscissa: Diameters of blastomeres in  $\text{Ca}^{++}$ -free sea water measured by the aid of an ocular screw micrometer (a scale unity equal to  $0.38 \mu$  at the magnification used). a mixed 16-cell stage blastomeres, b separated micromeres.

In the above-mentioned experiment giving the maximum volume of packed micromeres, the diameters of 50 separated micromeres were measured and compared with the diameters of sixteen cell-stage blastomeres (Fig. 1). Obviously there are only micromeres among these measured 50 cells, and the examination of several hundreds of separated cells did not reveal any cell larger than the largest micromeres<sup>1</sup>.

P. E. LINDAHL and K. H. KIESSLING

Institute of Zoophysiology, University of Uppsala, June 1, 1950.

#### Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur Herstellung von reinen Suspensionen der Mikromeren des 16-Zellen-Stadiums von *Paracentrotus lividus* (Seeigel) ausgearbeitet, wobei die von LINDAHL<sup>2</sup> konstruierte Gegenstromzentrifuge Verwendung findet.

<sup>1</sup> These experiments were carried out at the Zoological Station at Naples. We express our hearty thanks to Prof. R. DOHRN, the director of the station, and his staff, for their kind support of our work.

<sup>2</sup> P. E. LINDAHL, Nature 161, 648 (1948).

#### Blastokinesis and Embryonic Development in a Phasmid

No conclusive information is as yet available on the mechanism and function of blastokinetic movements of insect embryos. Opinions differ even regarding the necessity of these revolutions for the completion of normal embryogenesis<sup>1</sup>. During a recent study of the embryonic development of *Bacillus libanicus* certain observations concerning these problems were made.

In this species blastokinesis consists of three main, separate movements. The first movement begins while the embryo is still in the unsegmented germ-disc stage, situated on the ventral surface of the egg near the posterior pole; the protocephalic region is directed towards the anterior pole of the egg. By gradually

<sup>1</sup> P. E. LINDAHL, Nature 161, 648 (1948).  
<sup>2</sup> S. HÖRSTADIUS, Biol. Rev. 14, 132 (1939).  
<sup>3</sup> J. RUNNSTRÖM, Protoplasma 4, 388 and 5, 201 (1928).  
<sup>4</sup> P. E. LINDAHL, Acta zool. 17, 179 (1936).  
<sup>5</sup> J. LUNDIN, unpublished experiments.  
<sup>6</sup> P. E. LINDAHL and J. LUNDIN, Science 108, 481 (1949).  
<sup>7</sup> H. W. BEAMS and T. C. EVANS, Biol. Bull. 77, 328 (1939).  
<sup>8</sup> The time of separation was limited by certain construction details, which will be altered in a near future.  
<sup>9</sup> The letters in brackets refer to the formula by LINDAHL (1948) for the calculation of  $r_{min}$ , the critical radius diameter separating two fractions of particles.

<sup>1</sup> F. SEIDEL, Arch. Entw. Mech. Org. 2, 322 (1929). – M. TIRELLI, Zool. Jb. 49, 59 (1931). – E. H. SLIFER, Biol. Zbl. 52, 223 (1932).



rotating to its right, around a central transverse axis, the embryo moves in an anticlockwise direction on the ventral surface of the egg (Fig. 1, A). The original orientation of the embryo is thus changed by  $180^\circ$ , the originally cephalic end now being directed towards the posterior pole of the egg. This first phase of blastokinesis lasts for 4 to 5 days and is accompanied by marked growth and differentiation. Six days later the second phase begins, which consists of a meridional movement around the

is thus actually a summation of several separate motions of the embryo. SLIFER<sup>1</sup>, who observed a similar process in *Melanoplus*, tried to locate the mechanism of these movements in contractions of certain spindle-shaped cells, probably precursors of the abdominal muscles. Similar cells are also present at this stage in *B. libanicus* and their position supports SLIFER's assumption.

The second phase movements could be prevented by transferring eggs at the end of the first phase to a temperature of  $10^\circ\text{C}$  for 8 to 10 days. Many eggs treated in this way resumed their development when returned to optimal conditions and the embryos reached full differentiation. But their orientation, compared with that of normal embryos was found to be fully inverted (Fig. 1, D), which indicates that after resumption of development no further blastokinetic movements occurred, and the embryo remained in the pre-second phase position. No structural malformations were observed in such embryos, so that, in spite of their inverted position, they apparently developed normally, although they were, of course, unable to hatch.

The first phase movements could not be prevented by low temperatures; those of the embryos which recovered from the treatment, rotated. The early stage at which these movements start suggested a possible association between their mechanism and the structural organization of the egg. To probe this possibility centrifugations of eggs were carried out. It was found that 4-day eggs centrifugated at 1,500 r.p.m. for 10 minutes (which caused no visible stratification) completed their development and that in 32 out of 50 such eggs no blastokinesis had occurred. This could be judged by the orientation of the fully developed embryos which, on examination, was found identical with that of the initial germ disc (Fig. 1, E). As the examination did not damage the embryos (they were observed through the opercular aperture, the lid being easily replaceable) many of them hatched, thereby demonstrating that they were normal. It is noteworthy that the above condition was not found to occur in any of the more than a thousand normal untreated eggs examined.

It appears therefore, that in *B. libanicus* embryonic development may proceed in the absence of the typical blastokinetic movements. The prevention of the first phase movements by slight centrifugation of the egg, points to its possible relation to changes in the spatial organization or orientation of the egg components. The temperature sensitivity and the nature of the second phase movements support the assumption that they result, at least in part, from contractions of the embryo. The third phase movements are apparently due to the passive expansion of the growing embryo and, as such, may also occur in the absence of the two preceding phases.

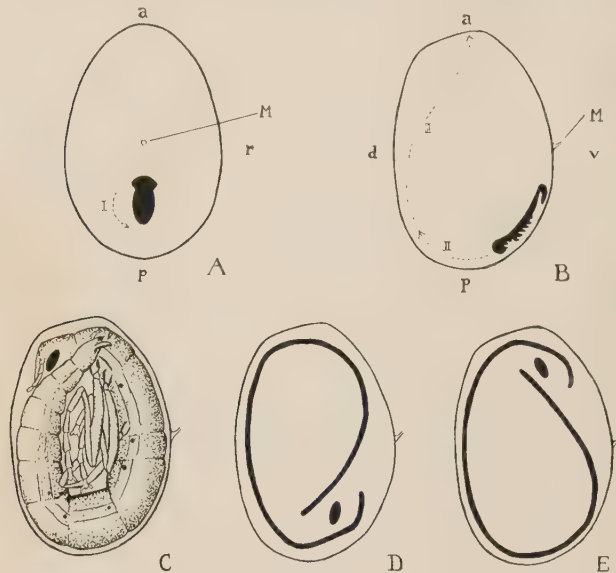
A. MOSCONA

The Hebrew University, Jerusalem, Israel, May 25, 1950.

#### Zusammenfassung

Die Blastokinese des Embryos der Stabheuschrecke *B. libanicus* besteht aus drei getrennten Bewegungen. Hinweise auf den Mechanismus der einzelnen Bewegungen ergeben sich aus den Resultaten der Zentrifugierung und Kühlung der Eier wie auch aus den histologischen Untersuchungen der Embryonen selbst. Es erwies sich als möglich, die Blastokinese experimentell vollkommen zu verhindern, anscheinend ohne jede Schädigung der sich entwickelnden Embryonen, welche ohne Störung schlüpften und sich normal weiter entwickelten.

<sup>1</sup> E. H. SLIFER, Biol. Zbl. 52, 223 (1932).



A Semi-schematic representation of the ventral surface of egg with germ-disc, before the beginning of blastokinesis; I direction of first phase movement; M micropyle.

B Side-view of egg and embryo at the end of first stage movement; II direction of second-stage movement; III direction of third-stage movement.

C Side-view of normally situated, fully developed embryo.

D, E Position of fully inverted embryo due to suppression of the second phase (D), and of partly inverted embryo due to suppression of the first phase of blastokinesis (E).

posterior pole, shifting the embryo from the ventral towards the dorsal surface of the egg; its head is now again directed towards the anterior pole (Fig. 1, B). This phase lasts for about 25 to 30 hours, during which there is only slight additional growth. The third phase, which begins 1 to 3 days after the termination of the second, is marked by accelerated growth and consequently by increased absorption of the extraembryonal yolk. Facing the dorsal surface of the egg the embryo moves anteriorly until its head reaches the opercular cap (Fig. 1, C). In this final position its development is completed and the embryo enters into diapause terminated by hatching.

The third phase movements apparently result from the growth and elongation of the embryo and the decrease of the extraembryonal yolk. At the anterior part of the egg the yolk is used up most rapidly and the growing embryo passively expands in this direction.

The second phase movements were studied through direct observation of living embryos. This was carried out by stripping eggs at this stage of their opaque exochorions and keeping them in a moist chamber. This procedure caused no immediate serious damage as the remaining transparent envelopes maintained the egg in a condition enabling the embryo to continue its development for some time. The movements of the embryo thus observed consisted of alternating periodic jerks to its left and right, each motion advancing it slightly forwards along a zigzag line. The second phase movement

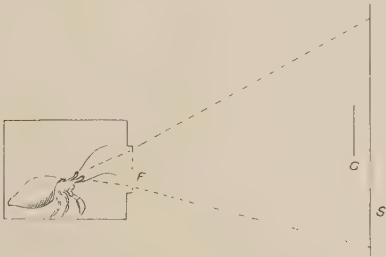


Wahrnehmung polarisierten Lichtes  
durch *Eupagurus*<sup>1</sup>

Gewisse in letzter Zeit gemachte Beobachtungen machen es wahrscheinlich, daß die Augen mancher amphibiotisch lebender Tiere, die von der Luft ins Wasser sehen müssen, über eine Einrichtung verfügen, die ähnlich wie ein Analysator das störende polarisierte Licht ausschalten.

Zweck der vorliegenden Untersuchung war, zu erforschen, ob bei Flachwasserkrebsen, die sowohl von der Luft ins Wasser als auch von Wasser in Luft sehen, ähnliche Einrichtungen vorhanden sind. Als Untersuchungsobjekt dienten *Talitrus saltator* und *Eupagurus bernhardus*. Im folgenden sind der Kürze halber nur die Versuche mit *Eupagurus* angeführt. Die Versuche mit *Talitrus* brachten im wesentlichen die gleichen Ergebnisse.

Ausgangspunkt der physiologischen Untersuchung des Sehvermögens von *Eupagurus* bei gewöhnlichem und bei polarisiertem Licht bildete die Signalreaktion (BRÖCKER)<sup>2</sup>. Diese tritt immer dann ein, wenn ein im Gesichtsfeld des Tieres vorbeibewegter Gegenstand wahrgenommen wird, d. h. wenn der Reiz, den der Gegenstand liefert, so stark ist, daß ein Ausschlag der zweiten Antennen erfolgt. Dieser Ausschlag, der stets in einem deutlichen Hochwerfen der zweiten Antennen besteht, ist bis zu einer ganz bestimmten maximalen Entfernung des Gegenstandes vom Tier zu beobachten. Wird diese Maximalentfernung überschritten, so tritt keine Reaktion mehr ein. Auf diese Weise ist z. B. für verschiedene Gegenstandsgrößen eine genaue Grenze der Wahrnehmbarkeit feststellbar. Ebenso wird diese Maximalentfernung kleiner, wenn der Gegenstand lichtschwächer wird.



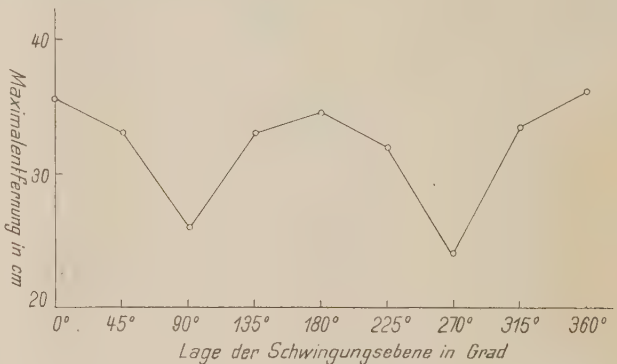
Die Versuchsanordnung war folgende: Das Versuchstier befand sich in einem ausreichend großen Gefäß mit Nordseewasser. Der Sehraum des Tieres war nach drei Seiten hin abgedunkelt, so daß nur nach einer Seite hin freier Ausblick blieb. Vor diesen kam ein Polarisationsfilter, das in einem Rahmen derart befestigt war, daß man leicht den Drehwinkel verändern und die Gradzahl ablesen konnte. Die «Null-Grad»-Stellung der Schwingungsebene entsprach der Vertikalrichtung. Dem Filter gegenüber wurde ein weißer Schirm aufgestellt, der mit Licht von konstanter Helligkeit beleuchtet wurde. Vor dem Schirm wurde der Gegenstand, ein Quadrat aus schwarzer Pappe, vorbeigeführt. In das Auge des Krebses gelangte also nur polarisiertes Licht.

<sup>1</sup> Mündliche Mitteilung von Herrn Prof. MENNER an Herrn Prof. von BUDDENBROCK, dem ich die Anregung zu dieser Arbeit verdanke.  
<sup>2</sup> H. BRÖCKER, Diss. Kiel (1935).

Die erste Frage ist nun, ob das Sehvermögen des Versuchstieres bei Anwendung des Filters herabgesetzt ist, und zweitens, ob sich das Sehvermögen bei Drehung des Filters, was ja einer Drehung der Schwingungsebene gleichkommt, ändert. Es konnte gezeigt werden, daß tatsächlich beides der Fall ist.

In der Tabelle am Fuß sind die während einer Versuchsreihe mit dem gleichen Exemplar erhaltenen Werte für die um je 45° verschiedenen Schwingungsebenen zusammengestellt.

Aus den Werten der Tabelle ergibt sich folgende graphische Darstellung:



Maximalentfernung der Wahrnehmung eines Gegenstandes von der Größe 6 cm<sup>2</sup> in Abhängigkeit vom Drehwinkel der Schwingungsebene.

Als Bild der Kurve entsteht eine typische Sinuslinie mit der Wellenlänge 180°. Zwischen einem Maximum und einem benachbarten Minimum liegt ein Drehwinkel der Schwingungsebene von 90°. Ein Absinken des Sehvermögens bis auf Null tritt bei keinem Drehwinkel ein, ein Zeichen dafür, daß die Auslöschung nur einen bestimmten Prozentsatz des Lichtes betrifft.

Eine ähnliche Kurve erhielt auch WATERMAN<sup>1</sup> in dessen Arbeit ich jedoch erst nach Abschluß dieser Versuche Einblick bekam. Er reizte isolierte Ommatidien eines Limulus mit polarisiertem Licht verschiedener Ebenen und notierte die Stärke der Impulsfrequenz. Über die physiologische Bedeutung oder den Sitz einer entsprechenden Einrichtung im Auge macht er keine Aussagen.

MARGARETE KERZ

Zoologisches Institut der Universität Mainz, den 9. Mai 1950.

Summary

- (1) *Eupagurus bernhardus* has in its compound eye an apparatus that can distinguish polarized light like an analyser.
- (2) This extinction does not apply to all the polarized light, but only a certain amount of it, this may be concluded from the fact that in the former experiments the strength of vision in no case became zero.
- (3) Probably the analyser in the eye of *Eupagurus* functions as an extinguisher of the disturbing polarized light, for the sunlight reflected from the surface of water is polarized to an ample extent.

<sup>1</sup> T. H. WATERMAN, Science 111, 252 (1950).

Drehwinkel der Schwingungsebene (Grad)	0°	45°	90°	135°	180°	225°	270°	315°	360°
Maximale Entfernung (cm)	35,5	33,0	26,0	33,0	34,5	32,0	24,0	33,5	36,0



## Antidiuretic Action of Enteramine

Previous investigations<sup>1</sup> have shown that acetone extracts of posterior salivary glands of *Octopus vulgaris* and *Eledone* (*E. moschata* and *E. Aldrovandi*) contain a principle which markedly reduces the diuresis of hydrated rats.

Later and more extensive researches, which will be reported in detail in future papers, have confirmed these first observations, allowing us to individualize and characterize the antidiuretic principle more accurately.

This is now to be identified, with reasonable certainty, as the enteramine-like substance which for several years has been known to exist in the posterior salivary glands of the *Octopoda* mentioned above. In fact:

(1) The field of distribution of the antidiuretic principle strikingly covers that of enteramine (or enteramine-like substances), both in the different animal species and in the different organs of an individual animal. Indeed, not only extracts of salivary glands of *Octopus vulgaris* and *Eledone* possess antidiuretic activity, but also extracts of the hypobranchial body of *Murex trunculus* and *Murex brandaris*, as well as, although to a lesser extent, extracts from ox spleen, gastric mucosa of rabbits and dogs, and duodenal mucosa of oxen and dogs. Extracts of hepato-pancreas, kidney, gill, intestine, ovary, testicle, tentacle muscle and hemolymph of *Eledone moschata* and *Octopus vulgaris* have practically no antidiuretic action (only in massive doses can they reduce or delay the urine excretion). Extracts from kidney, liver, brain, testicle, lung, heart, skeletal muscle and smooth muscle of the stomach and intestine of a calf, and extracts from the smooth gastro-intestinal muscle of a dog are equally ineffective.

It has already been pointed out in the preceding communication that extracts of posterior salivary glands of *Octopus macropus*, which are completely free of enteramine, exhibit an evident stimulating action on diuresis instead of an antidiuretic action.

(2) Provided that care has been taken to eliminate any possible interfering materials (murexine and moschatine, for example), the antidiuretic activity of enteraminic extracts is roughly but clearly proportional, both in intensity and duration, to the content of enteramine, as determined colorimetrically (coupling reaction with diazonium salts in an acid medium, iodine reaction) and biologically (oestrus-uterus of rats or mice, urinary bladder of dogs).

(3) Any procedure which destroys or inactivates enteramine (treatment with formalin, with diazonium salts, with potassium iodate, benzoilation, methylation, ultraviolet irradiation<sup>2</sup>) also destroys the antidiuretic activity of the enteramine-containing extracts. Moreover, the antidiuretic principle of crude extracts closely resembles enteramine in its resistance to alkali and acids in the heat.

Enteraminase (amine oxidase) of fresh phosphate extracts of the intestine, liver or kidney of a guinea-pig completely destroys the antidiuretic activity of the enteraminic extracts, at least so long as the enzyme is not inhibited by methylene blue.

(4) On fractionating dry residues of salivary extracts of *Octopus vulgaris* by various methods, the antidiuretic activity always follows the distribution of the enteramine-

like substance. So, for instance, in chromatographic partition experiments on paper<sup>1</sup> and columns, only the eluates from enteraminic spots and zones show diuresis inhibition.

The antidiuretic activity of enteramine-containing extracts has so far been established in rats (the animal on which the bulk of our experiments has been carried out), dogs, guinea-pigs, frogs, toads and humans, both healthy and suffering from diabetes insipidus. Rabbits have given inconclusive results.

Doses of salivary extracts of *Octopus vulgaris*, corresponding to 0.2–0.5 g fresh tissue per kg body weight have been proved definitely effective in rats and humans.

The onset of action is almost immediate (a few minutes after the s. c. or i. m. injection of enteraminic extract was given). The urinary block may be total, and lasts for a variable time (up to 5–6 hours or more); it is approximately proportional to the amount of antidiuretic extract injected, naturally within certain limits.

Enteramine inhibits and reduces not only normal and water diuresis, but also that due to xanthines, mercurials, salts and urea.

The hitherto tested enteramine-containing extracts have been numerous and partly obtained from very rich material (about 15,000 specimens of *Octopus vulgaris*, at least as many of *Eledone*, and more than 10,000 specimens of *Murex trunculus*).

Our experiments have been conducted on more than 500 groups of 4–5 rats.

We are indebted to the Italian Research Council for a generous grant-in-aid in connection with this work.

V. ERSFAMER and A. OTTOLENGHI

Pharmacological Institute, University of Bari, July 20 1950.

### Zusammenfassung

Acetonextrakte der hinteren Speicheldrüsen von *Octopus vulgaris* und *Eledone* (*E. moschata* und *E. Aldrovandi*), der Hypobranchialdrüse von *Murex trunculus* und *Murex brandaris*, sowie der Milz und der Magen- und Dünndarmschleimhaut von Säugetieren verhindern merkwürdigerweise die Diurese der Ratte, des Hundes, des Meerschweinchens, des Frosches, der Kröte und des Menschen (gesund und krank an *Diabetes insipidus*).

Die diuresehemmende Wirkung solcher Extrakte ist ausschließlich ihrem Enteramingehalt zuzuschreiben.

Enteramin hemmt nicht nur die normale und die Wasserdiurese, sondern auch die durch Salze, Xanthinderivate und Quecksilberverbindungen erzeugte Diurese.

<sup>1</sup> V. ERSFAMER and G. BORETTI, Exper. 6, 348 (1950).

## The Effect of Aureomycin on Tissue Cultures

One of the most important of the new antibiotics described in the past few years is aureomycin, which has been isolated from the substrate of *Streptomyces aureofaciens*<sup>1</sup>. The antibiotic has been used mainly in the form of its crystalline golden-yellow hydrochloride, which is soluble in water, but somewhat less soluble in saline. The dilute solutions quickly lose their activity at room temperature and alkaline  $p_H$ . Human serum also seemed to have an inhibiting effect on the antibiotic activity<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> V. ERSFAMER e L. PEROSA, Exper. 4, 486 (1948).

<sup>2</sup> V. ERSFAMER Arch. Sci. Biol. (Ital.) 20, 296 (1940); Acta pharmacol. 4, 213 (1948).

<sup>1</sup> B. M. DUGGAR, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51, 177 (1948).

<sup>2</sup> T. F. PAINE, J. Bact. 56, 489 (1948).



In the first series of experiments we added aureomycin directly to the culture medium and followed the growth of the cultures quantitatively. The results are plotted in Table I. In the second series of experiments the cells were in contact with the saline solution of the antibiotic for only 6 hours. A concentration of 0.5 mg/ml caused only some anomalies in the dividing chromosomes. In stronger concentrations of 1, 2, 3 mg/ml a prolongation of the reconstruction and simultaneously a shortening of the prophase was found (Table II). In many cells the division of the nucleus is not followed by the division of the cytoplasm, so that 2-3 nuclear cells appear. Especially at the stronger concentration (3, 4 mg/ml) a rather large number of these multinuclear cells is formed, and very often it is difficult to say whether one is dealing with reconstruction or with finished division and that is the reason why the number of reconstructions in the strongest concentrations is relatively low. The cells very often retain their round shape during the whole division and very often also after the division. The nucleus is sometimes pyknotic, sometimes it has little chromatin. In the metaphase pathological anomalies (pyknosis, rhexis) are often found. It is interesting that up to certain concentrations these toxic changes are reversible. Fibroblasts after 12 hours' contact with the solution of aureomycin at a concentration up to 3 mg/ml could be saved by subculturing into a new medium. At the concentration of 4 mg/ml not more than several cells full of fett granules grow out after subculturing. At higher concentrations the damage is irreversible.

In spite of the fact that all these pathological effects appear only at relatively high concentrations of aureomycin, it is necessary to take account of them especially in local therapy.

HELENA KEILOVÁ-RODOVA

Department of Animal Physiology, University of  
Prague, Czechoslovakia, December 14, 1949.

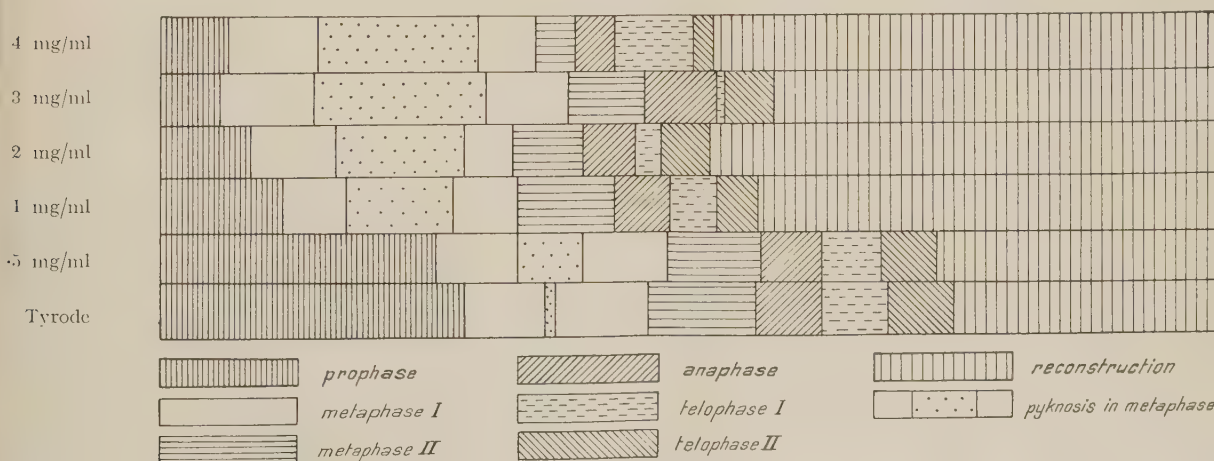
<sup>1</sup> H. KEILOVÁ, Exper. 4, 483 (1948).

<sup>2</sup> H. KEILOVÁ, Exper. 5, 242 (1949).

<sup>3</sup> An American preparation, Aureomycin hydrochloride, American Cyanamid Company, N. Y., was used in these tests.

<sup>1</sup> S. MORTON *et al.*, J.A.M.A. 138, 117 (1948).

Table II





### Zusammenfassung

Die Wirkung von Aureomycin auf *in vitro* gezüchtete Bindegewebszellen wurde untersucht. In einer Konzentration von 1 mg/ml und in höheren Konzentrationen konnte eine starke Beeinflussung der Mitose beobachtet werden. Die Rekonstruktionsphase verlängert sich unter gleichzeitiger Verminderung der Prophase. Bei stärkeren Konzentrationen sind die Zellen nicht imstande, die Mitosis zu beenden, so daß in den Kulturen viele 2-3-nukleäre Zellen entstehen. Bis zur Konzentration von 2 mg/ml sind alle diese Beschädigungen reversibel.

### The Utilization of the Branched Chain of Isobutyric Acid Studied with $C^{14}$ <sup>1</sup>

Recent work has shown that isocaproic and isobutyric acids are degraded *in vitro* by kidney or liver enzyme preparations following the classic scheme of  $\beta$ -oxidation. This has been accomplished by manometric measurements of oxygen uptake<sup>2</sup> and by counter-current distribution separation of the reaction products<sup>3</sup>. A mechanism for the formation of propionic acid from isobutyric acid has been proposed<sup>3</sup>. On the other hand, COON and GURIN<sup>4</sup> have reported that leucine is first degraded to isovaleric acid and then  $\beta$ -oxidized to acetic acid and a 3-carbon fragment. It seemed of interest to investigate the behavior of these compounds *in vivo* by the application of radioactive tracer techniques. This paper is a report on experiments carried out with carboxyl- and methyl-labeled isobutyric acid.

**Experimental:** Sodium isobutyrate-1- $C^{14}$  was prepared by the reaction of isopropyl-magnesium bromide with  $C^{14}O_2$  following the directions of CALVIN and coworkers<sup>5</sup> for the preparation of acetic acid-1- $C^{14}$ . The sodium isobutyrate-3- $C^{14}$  was prepared in a similar manner using methyl-labeled isopropyl bromide and inactive  $CO_2$ . The specific activity of the sodium isobutyrate-1- $C^{14}$  was 1.72  $\mu$ c/mg, and that of the sodium isobutyrate-3- $C^{14}$  was 1.50  $\mu$ c/mg. The yield for the carboxyl-labeled material was 97.5% based on the radioactive barium carbonate employed<sup>6</sup>. The yield for the methyl-labeled material was 48% based on the isopropyl bromide. The preparations were carried out on a 20 mmole scale.

The sodium salt of the acid, ca. 0.075 mg/g body weight, was injected intraperitoneally into a 200 g (Curtis-Dunning strain) rat that had been fasted for twenty-four hours previously. The animal was immediately placed in a metabolism cage, and the expired carbon dioxide, feces and urine collected. This carbon dioxide was collected at specified time intervals in 1 N sodium hydroxide and converted to barium carbonate. The specific activity of the barium carbonate was determined according to the method of YANKWICH *et al.*<sup>7</sup>. Geiger-Müller or "Nucleometer" (a windowless proportional counter) counters were used, depending on the specific activities being measured.

After five hours the animal was sacrificed. The liver was removed and ground in a glass mortar with sand until very finely divided. The ground mass was fractionated to obtain the total lipid, amino acid and protein, and glycogen.

<sup>1</sup> The work described in this paper was sponsored by the Atomic Energy Commission.

<sup>2</sup> A. L. GRAFFIN and D. E. GREEN, J. Biol. Chem. 176, 95 (1948).

<sup>3</sup> W. A. ATCHLEY, J. Biol. Chem. 176, 123 (1948).

<sup>4</sup> M. J. COON and S. GURIN, J. Biol. Chem. 180, 1159 (1949).

<sup>5</sup> M. CALVIN, C. HEIDELBERGER, J. C. REID, B. M. TOLBERT, and P. E. YANKWICH, *Isotopic Carbon* (John Wiley and Sons, Inc., New York, 1949).

<sup>6</sup> One  $\mu$ c =  $2.20 \times 10^6$  dis/min. The counters used were calibrated using accurately standardized barium carbonate prepared by the Oak Ridge National Laboratories. The efficiency of the counters used was about 5%.

<sup>7</sup> P. E. YANKWICH, Science 107, 681 (1948). – P. E. YANKWICH and J. W. WEIGL, Science 107, 651 (1948).

**Discussion:** The results of these experiments are summarized in the accompanying figure and table. The curves for the rate of elimination of  $C^{14}$  as  $C^{14}O_2$  are shown in Fig. 1. The amount eliminated after five hours approaches a value of 80–85% for the carboxyl-labeled compound and 45–50% for the methyl-labeled compound. In the case of the carboxyl-labeled isobutyrate, the final amount and the general shape of curve A is similar to the curves observed by JONES and coworkers<sup>1</sup> for the straight chain fatty acids. Based upon the amount of activity of the isobutyrate injected, the ratio of the specific activities of the excreted  $C^{14}O_2$  should be 1.82. We see from Table I that the ratio is 1.76.

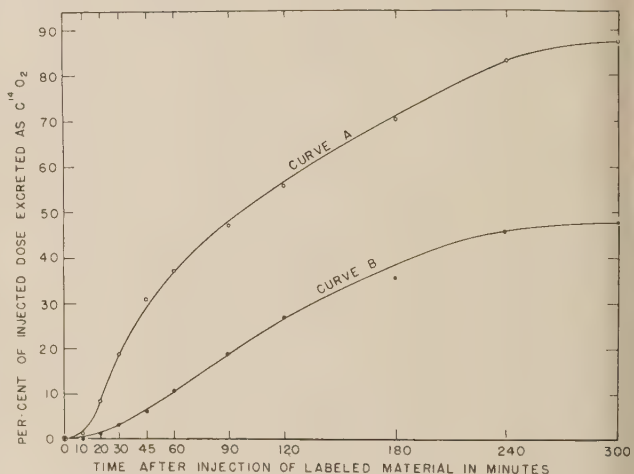


Fig. 1. – Rate of Elimination of  $C^{14}$  as  $C^{14}O_2$ .

There is, however, a definite difference in the initial rates of excretion of labeled carbon dioxide in the breath of the animals injected with sodium isobutyrate-1- $C^{14}$  and sodium isobutyrate-3- $C^{14}$ , that of the animal injected with the isobutyrate-1- $C^{14}$  being the higher.

The difference in these rates together with the amount of radioactivity incorporated into the fraction of the liver leads us to believe that the isobutyrate is degraded to  $CO_2$  and a 3-carbon fragment. This degradation may proceed in either of two ways. The first involves a direct decarboxylation to  $CO_2$  and a 3-carbon fragment, in this case acetone. The second involves  $\beta$ -oxidation to a malonic acid derivative followed by decarboxylation to give  $CO_2$  and a 3-carbon fragment, propionic acid.

If the latter were the major reaction, the propionic acid formed from the carboxyl-labeled isobutyrate would have one-half the activity of that formed from the methyl-labeled material, since it has been shown<sup>2</sup> that propionate is a direct precursor of liver glycogen. The glycogen formed in the liver of the animal given the carboxyl-labeled isobutyrate should have one-half the activity of that from the animal given the methyl-labeled isobutyrate. From the data in Table I we see that the reverse is true.

Assuming direct decarboxylation, all  $C^{14}O_2$  excreted in the breath of the animal injected with methyl-labeled isobutyrate would result from further oxidation of the 3-carbon fragment. Since acetone is a symmetrical molecule, half of the  $CO_2$  would be expected to show radioactivity. Actually, 87% of the radioactivity of the carboxyl-labeled isobutyrate and 47% of the methyl-

<sup>1</sup> H. B. JONES, personal communication.

<sup>2</sup> J. M. BUCHANAN, A. B. HASTINGS, and F. B. NESBETT, J. Biol. Chem. 150, 413 (1943).



Table I

C<sup>14</sup> Content of Tissues and Liver Fractions of Rats Injected with Sodium Isobutyrate-1-C<sup>14</sup> and Sodium Isobutyrate-3-C<sup>14</sup>

Fraction	Compound Injected*			
	Sodium Isobutyrate-1-C <sup>14</sup>		Sodium Isobutyrate-3-C <sup>14</sup>	
	Specific Activity dis/min/mg dry tissue	% of Injected Dose	Specific Activity dis/min/mg dry tissue	% of Injected Dose
Breath . . . . .	3700	87	2100	47
Urine . . . . .	10170	1.48	3350	0.25
Total lipid of liver . . . . .	186	0.11	960	0.4
Total fatty acids of liver . . . . .	—**	—**	650	0.3
Non-saponifiable . . . . .	—**	—**	650	0.03
Liver protein . . . . .	110	0.32	562	1.41
Liver glycogen . . . . .	926	0.65	300	0.07

\* These results are the average of three rats for each compound. Individuals did not vary more than 5% from the mean.

\*\* The specific activity was so low as to make these values insignificant.

labeled isobutyrate was excreted in the breath. We assume, then, that the remainder, 13% and 3%, respectively, goes to the metabolic pool. It has been shown that  $\text{CO}_2$  is a precursor of both liver glycogen<sup>1</sup> and urea<sup>2</sup>. Since the ratio of the  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  available in these two cases is 13:3 or 4:3, we should expect that the ratio of the specific activities of the liver glycogen and the urea would be about the same. We see from the data in Table I that the ratios are 3.09 and 3.03, respectively. The deviation of the value of 3.09 from the theoretical value may be attributed to the incorporation of radioactive pyruvate (see below) into the liver glycogen. We cannot, at present, explain the slight deviation of the value for urea from the theoretical.

To carry the idea of direct decarboxylation further, the acetone formed from carboxyl-labeled isobutyrate would have no activity, whereas that from the methyl-labeled isobutyrate would be labeled in the methyl group. This compound is further oxidized through pyruvate (carboxyl and  $\beta$ -labeled) to acetic acid and  $\text{CO}_2$ . One-half the activity is now in the acetic acid and

one-half is in the  $\text{CO}_2$  (see above). As this  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  is produced, we get the delayed rise in the curve for the excretion of  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  in the breath of the animal injected with the methyl-labeled isobutyrate. One-half of the acetic formed in the animal given the methyl-labeled isobutyrate was itself labeled in the methyl group. This accounts for the activity of the fatty acids<sup>1</sup> and sterols<sup>2</sup> from the liver of this animal, whereas these components from the liver of the animal given the carboxyl-labeled isobutyrate contained an insignificant amount. The same reasoning leads to an explanation of the radioactivity of the liver protein. GREENBERG and WINNICK<sup>3</sup> found that the protein of animals fed methyl- or carboxyl-labeled acetic acid contained more activity than those fed radioactive bicarbonate. The difference in radioactivity which we report is greater than reported by these investigators, but this can again be attributed to the incorporation of pyruvate<sup>4</sup>.

Based upon the above discussion, we postulate the following reaction scheme:

<sup>1</sup> J.M.BUCHANAN, A.B.HASTINGS, and F.B.NESBETT, *J. Biol. Chem.* **150**, 413 (1943). - A.K.SOLOMON, B.VENNESLAND, F.W.KLEMPERER, J.M.BUCHANAN, and A.B.HASTINGS, *J. Biol. Chem.* **140**, 171 (1941). - B.VENNESLAND, A.K.SOLOMON, J.M.BUCHANAN, and A.B.HASTINGS, *J. Biol. Chem.* **142**, 379 (1942).

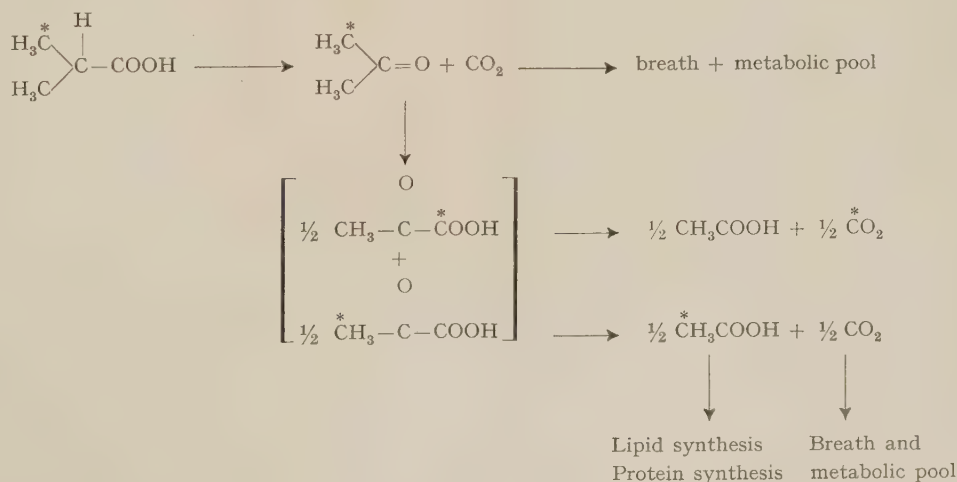
<sup>2</sup> D. RITTENBERG and H. WAELSCH, *J. Biol. Chem.* **136**, 799 (1940). — E. A. EVANS, JR. and L. SLOTIN, *J. Biol. Chem.* **136**, 805 (1940).

<sup>1</sup> D. RITTENBERG and K. BLOCH, J. Biol. Chem. 160, 417 (1945). — K. BLOCH, Physiol. Rev. 27, 574 (1947).

<sup>2</sup> K. BLOCH, *Physiol. Rev.* 27, 574 (1947). — E. BOREK and D. RITTENBERG, *J. Biol. Chem.* 179, 843 (1949).

<sup>3</sup> D.M. GREENBERG and T. WINNICK, Arch. Biochem. 21, 166 (1949).

<sup>4</sup> E. BALDWIN, *Dynamic Aspects of Biochemistry* (MacMillan Co., New York, 1947).





*Acknowledgement:* We wish to express our thanks to Prof. MELVIN CALVIN for his kind interest in this work.

IRVING GRAY<sup>1</sup>, PATRICIA ADAMS, and HEINRICH HAUPTMANN<sup>2</sup>

Radiation Laboratory and Department of Chemistry, University of California, Berkeley, May 15, 1950.

### *Zusammenfassung*

Auf Grund von Versuchen über den Metabolismus der carboxyl- und methylsignierten Isobuttersäure im Stoffwechsel der Ratte wird ein Abbaumechanismus für diese Verbindung vorgeschlagen.

<sup>1</sup> Major, Medical Service Corps, United States Army.

<sup>2</sup> Rockefeller Fellow. While on leave from the Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

### **Azione dei raggi X sul metabolismo degli acidi nucleinici in cellule proliferative e cellule secretrici**

Numerosissime sono le ricerche che da vari anni si sono svolte sull'azione dei raggi X sulla cellula vivente. In particolare sono state descritte le anomalie della mitosi e della meiosi e le alterazioni dei cromosomi.

Le indagini sono state condotte da un punto di vista principalmente morfologico, mentre il lato chimico è stato completamente trascurato. Solo il MITCHELL<sup>1</sup> trovò per effetto dell'irradiazione, un accumulo di ribonucleotidi nel citoplasma, dovuto, secondo la sua interpretazione, a mancata sintesi di acido desossiribonucleico (DN) a spese dell'acido ribonucleico (RN).

La presente ricerca ha avuto lo scopo di studiare non tanto le alterazioni morfologiche del nucleo, quanto quelle del metabolismo nucleinico, che è alla base della riproduzione cellulare; e contemporaneamente di indagare le modificazioni che subiscono cellule secretrici non proliferative. Per tale ragione si è scelto come materiale il testicolo di *Asellus aquaticus*, che presenta il duplice vantaggio di essere conosciuto nel suo metabolismo nucleinico durante la spermatogenesi<sup>2</sup> e di essere fornito di cellule follicolari di rivestimento, delegate a secernere acido RN, e il cui nucleo poliploide presenta variazioni caratteristiche e bene identificabili, in relazione al ciclo di secrezione. In questo materiale si è quindi potuto studiare contemporaneamente l'azione dei raggi X su due tipi di cellule molto diverse, per struttura e per funzione.

I risultati generali indicano che le cellule irradiate subiscono profondi cambiamenti nel contenuto di acidi nucleinici; la sintesi dell'acido DN si arresta e questo ultimo si trasforma lentamente in acido RN, che la cellula successivamente espelle fin quando, rimasta completamente vuota di acidi DN e RN, muore. Tale trasformazione, benché con modalità lievemente diverse, avviene in entrambi i tipi di cellule studiate, proliferative e secretrici.

*Tecnica e osservazioni.* Gli animali, narcotizzati con CO<sub>2</sub>, venivano irradiati con una unica applicazione, con dosi variabili da 250 r a 5000 r, dati con apparecchio Gilardoni, senza filtro a 1030 r/minuto.

Le gonadi venivano prelevate in tempi successivi a cominciare dalla ventiquattresima ora ed esaminate sia in sezione sia in preparati per schiacciamento con le seguenti colorazioni: FEULGEN, UNNA-PAPPENHEIM (secondo BRACHET), ematossilina ferrica, carminio acetico.

L'effetto ottenuto con le varie dosi è sostanzialmente lo stesso, solo con le dosi più alte esso è più intenso ed evidente e i nuclei di tutte le cellule si trasformano in breve in acido RN. Il meccanismo di azione appare identico e verrà descritto come unico.

Nella gonade si assiste ad una rapida scomparsa delle cellule germinali, mentre le cellule follicolari scompaiono

più lentamente. Dopo circa 63 giorni la gonade è ancora reperibile, benché il numero delle cellule sia ridottissimo.

Le spermatogonie appaiono a prima vista le meno colpite. Subito dopo l'irradiazione entrano ancora in mitosi, successivamente non sono più in grado di farlo. La mitosi appare normale fino alla metafase, dopo i cromosomi si contraggono e danno le caratteristiche figure della «stickiness». Il nucleo diviene picnotico e si trasforma lentamente in acido RN, che passa gradualmente nel citoplasma e di qui all'esterno. Le cellule goniali colpite durante la profase precoce si arrestano in metafase e degenerano; se colpite in metafase giungono fino alla anafase o telofase e poi degenerano come descritto precedentemente (fig. 2). Dopo i primi giorni le gonie perdono la capacità di entrare in mitosi e si impoveriscono gradualmente di acido DN: la cromatina appare prima positiva solo per l'acido RN e poi sprovvista di entrambi gli acidi nucleinici.

Gli spermatociti entrano in meiosi solo nei primi due o tre giorni dopo l'irradiazione e appaiono piuttosto normali negli stadi di leptotene, zigotene, pachitene e diplotene. Nei giorni seguenti le alterazioni si manifestano già in questi stadi. Comunque dalla diacinesi inizia la «stickiness» e la degenerazione, analogamente a come già descritto, con la trasformazione di tutta la cromatina in acido RN.

Gli spermatidi tondi appaiono piuttosto anormali soprattutto nella forma, spesso a falce. Con le dosi basse si sono trovati pieni di granuli di acido RN e DN, il che fa pensare che forse provenivano da cellule colpite in telofase o all'inizio della loro trasformazione in spermatidi (fig. 5).

Gli spermatozoi rappresentano lo stadio apparentemente più colpito. Già dopo 24 ore gli spermatozoi immaturi, a bastoncino, presentano strozzamenti, rigonfiamenti, grosse vacuole e diminuita colorabilità sia in diverse zone dello stesso elemento sia in un intero elemento (fig. 4). Si trasformano poi lentamente in acido RN. Gli spermatozoi maturi con coda, si trasformano anch'essi lentamente in acido RN.

Le cellule di rivestimento presentano un ciclo di secrezione con quattro fasi nucleari caratteristiche e seriabili nel tempo perché corrispondono strettamente alle diverse fasi della spermatogenesi. Le fasi sono: una di elaborazione, una di secrezione e due di riposo. Dopo l'azione dei raggi X le cellule continuano il loro ciclo, non vengono cioè bloccate in qualche stadio come le cellule proliferative. Esse però si impoveriscono gradualmente di acido DN e iniziano una intensissima secrezione di acido RN in tutti gli stadi del loro ciclo (fig. 1), anche in quelli che, come struttura, corrispondono agli stadi di riposo (fig. 3 e 6). Nel periodo successivo oltre alla secrezione, si nota la trasformazione dell'intero nucleo in acido RN, che si frammenta in masserelle più piccole le quali vengono espulse. Le cellule continuano il loro ciclo e muoiono quando sono completamente prive di acidi nucleinici.

*Discussione.* Dai dati riportati è possibile concludere che l'azione dei raggi X consiste essenzialmente in una alterazione del metabolismo nucleinico: cioè una alterazione della sintesi di acido DN e dell'equilibrio acido DN-RN.

Si può pensare che l'irradiazione produce anzi tutto arresto di sintesi di acido DN: infatti le cellule irradiate in riposo, quando cioè deve avvenire la sintesi dei nuovi cromatidi, non entrano in mitosi oppure danno luogo a mitosi anormali, che si bloccano poi in metafase.

Oltre a questo effetto ne compare un'altro: trasformazione dell'acido DN in acido RN. Il fenomeno è gene-

<sup>1</sup> J. S. MITCHELL, Brit. J. Exp. Path. 23, 285 (1942).

<sup>2</sup> G. MONTALENTI, G. VITAGLIANO e M. DE NICOLA, Heredity, 4 75 (1950).



rale. Le gonie a riposo trasformano lentamente la loro cromatina in acido RN: ecco perchè dopo un certo tempo perdono la capacità di entrare in mitosi. I nuclei bloccati si trasformano in acido RN. Gli spermatozoi immaturi e maturi si trasformano in acido RN. I nuclei follicolari poliploidi secernono un eccesso di acido RN,

e non soltanto nella fase caratteristica, fino a trasformarsi completamente in esso. Poichè gli spermatozoi, elementi piuttosto poveri di enzimi e prodotti finiti dal punto di vista metabolico, si trasformano così rapidamente in acido RN, si può pensare che l'azione dei raggi X sia essenzialmente specifica sugli acidi nucleinici come tali e non su sostanze intermedie o regolatrici del loro metabolismo.

Occorre tener presente che le cellule secettrici, pur trasformandosi in acido RN, continuano il loro ciclo. La loro alterazione appare quindi essenzialmente nel metabolismo degli acidi nucleinici. La «stickiness», il blocco delle cellule proliferative, appare dunque esser un effetto secondario dell'alterato metabolismo nucleinico.

MARINA DE NICOLA

Centro di biologia del Consiglio Nazionale delle Ricerche presso la Stazione Zoologica Napoli, 8 giugno 1950.

### Summary

The action of X-rays on the metabolism of nucleic acids in proliferative and secretory non-proliferative cells has been investigated. X-rays determine a stop of DNA synthesis and a conversion of DNA into RNA. All germ cells, including spermatozoa, show this effect, and the same is true for the follicular secretory cells. The germ cells are blocked at different stages of mitosis or meiosis. On the contrary, the follicular cells continue their characteristic secretory cycle, until they are entirely deprived of both nucleic acids and eventually die.

The conclusion is drawn that the action of X-rays is essentially specific for the nucleic acids as such, and not for some intermediate substance of their metabolism, and that stickiness, metaphasic block, and chromosome abnormalities are probably a secondary effect of this action.

### Azione di sostanze ad azione antistaminica sulla intossicazione sperimentale da Tiramina e da Tirosina

È stato osservato che, somministrando Tiramina con la dieta, si produce una diarrea fatale nei ratti piccoli e che la suscettibilità a queste amine sparisce con l'età (GALE<sup>1</sup>). Anche una dieta che contenga dal 3 al 20% di Tirosina libera è altrettanto tossica (SULLIVAN *et al.*<sup>2</sup>) probabilmente per il fatto che si forma Tiramina per ossidazione della Tirosina nei reni (MARTIN<sup>3</sup>).

L'azione della Tiramina su una mucosa intestinale che non ha la capacità di inattivare l'azione tossica o perchè non contiene l'enzima adatto, animali molto giovani (EPPS<sup>4</sup>), o perchè l'attività della amina ossidasi è stata bloccata, produce fenomeni di congestione con iperemia vascolare ed aumento della permeabilità capillare e di ipercinesi (GALE<sup>1</sup>), agisce cioè come un purgante drastico.

È stato osservato che la sostanza attiva tissulare che condiziona la congestione dei vasi e l'aumento della permeabilità capillare della mucosa intestinale quale si ha per azione di un purgante drastico, è l'istamina: l'inibizione dell'azione dell'istamina, ottenuta per somministrazione degli antistaminici di sintesi, inibisce l'azione del purgante (ERSPAMER e PAOLINI<sup>5</sup>). Si è voluto quindi sperimentare se anche l'azione della Tiramina e della Tirosina viene inibita dagli antistaminici.

<sup>1</sup> E.F. GALE, Chem. Ind. 19, 721 (1941).

<sup>2</sup> M.X. SULLIVAN, W.C. HESS e W.H. SEBRELL, Publ. Health Pap. Wash. 4783 (1932).

<sup>3</sup> G.J. MARTIN, Arch. Biochem. 1, 937 (1942).

<sup>4</sup> H.M.R. EPPS, Biochem. J. 39, 37 (1945).

<sup>5</sup> V. ERSPAMER e A. PAOLINI, Arch. Int. pharmacodin. 11, 77, 415 (1948).

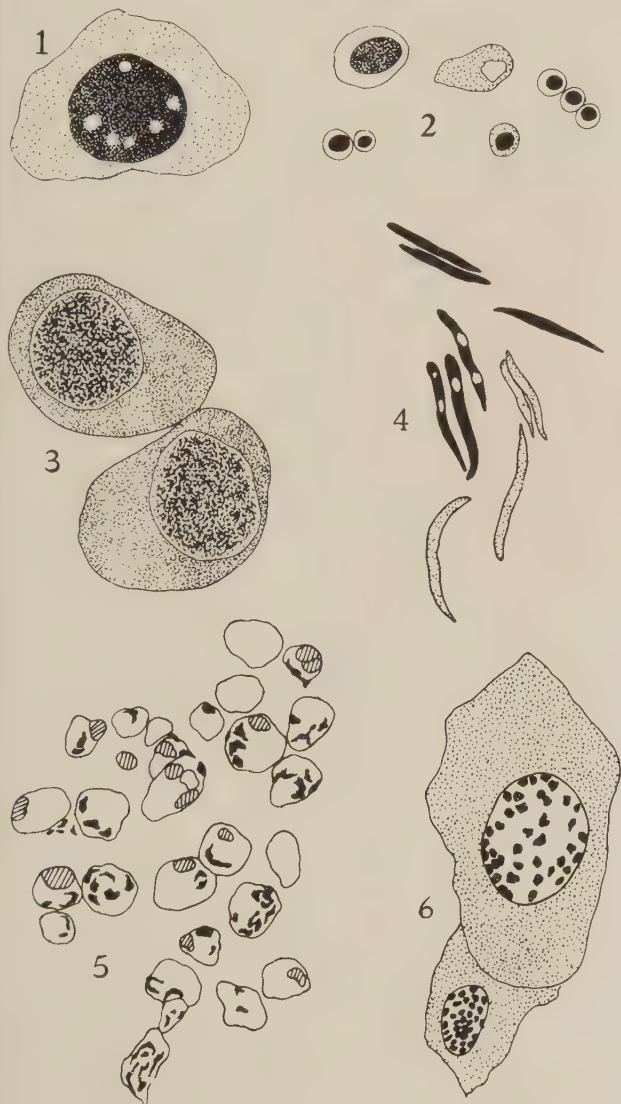


Fig. 1. - Trattamento: 3000 r. Cellula follicolare con nucleo in fase contratta, vacuoloso e in via di trasformazione in acido RN; citoplasma contenente una certa quantità di acido RN (746 ×).

Fig. 2. - Trattamento: 3000 r. Cellule germinali con nuclei «sticky», costituiti di acidi DN e RN. In alto due cellule follicolari, una con nucleo costituito interamente di acido RN, l'altro già esausto (746 ×).

Fig. 3. - Trattamento: 500 r. Cellule follicolari con intensa secrezione di acido RN, pur essendo la struttura dei nuclei corrispondente alla fase di riposo (fase I) (710 ×).

Fig. 4. - Trattamento: 250 r. Spermatozoi a bastoncello, vacuolosi e alcuni con diminuita colorabilità (2240 ×).

Fig. 5. - Trattamento: 500 r. Spermatidi tondi con granuli di acido DN (nero) e di acido RN (tratteggiato) (710 ×).

Fig. 6. - Trattamento: 500 r. Cellule follicolari con intensa secrezione di acido RN, pur essendo la struttura dei nuclei corrispondente alla fase di riposo (fase IV) (710 ×).

Gli esperimenti da noi effettuati studiano l'azione tossica e la minima letale della Tiramina e della Tirosina e poi l'azione dell'antistaminico in rapporto alla singola dose di Tiramina e di Tirosina ed in rapporto all'età dei ratti.

Tecnica sperimentale

Gli antistaminici adoperati sono stati il RP 32-77, antistaminico di sintesi, del quale si sono adoperate le dosi rispettivamente di 2, 4, 6 mg/100 g, ed il 2 imidazolinilmetil-benzidril etere cloridrato (Antadril) del quale si sono adoperate le dosi di 0,5, 1, 1,5 mg/100 g.

La Tiramina e la Tirosina<sup>1</sup> assieme agli antistaminici venivano somministrate la mattina a digiuno con la dieta formata da 2 g di mollica di pane umida. I ratti sono stati tenuti in osservazione per un periodo preliminare all'esperimento e sono stati scartati quelli che spontaneamente evacuavano feci poltacee. Per maggiore controllo ciascun ratto veniva tenuto in gabbia separata, e sotto le singole gabbie venivano posti dei fogli di carta bibula in modo da poter meglio rilevare le eventuali macchie che venivano a prodursi per l'evacuazione di feci fluide.

Protocolli

Un primo gruppo di ratti trattati con sola Tiramina al fine di studiare la dose minima tossica e la dose minima letale, ci ha mostrato che la Tiramina, somministrata a ratti di circa 25 giorni di età la mattina a digiuno con la dieta, provoca, alla dose di 100 mg, una sintomatologia da intossicazione consistente in intorpidimento e caduta di peso (5-10 g) manifestantesi già dopo 12 h. Con 200 mg la sintomatologia è più evidente, con 300 mg si ha la morte dell'animale che appare profondamente disidratato.

In un secondo gruppo si è osservato che la Tirosina aggiunta alla dieta in quantità di 200 mg produce numerose scariche fluide, con 300 mg oltre alle scariche fluide si notano segni tossici simili a quelli che si hanno con la somministrazione di 100 mg di Tiramina; con 400 mg la sintomatologia si accentua sino ad aversi con 500 mg la morte dell'animale che presenta un quadro simile a quello riscontrato nei ratti trattati con 300 mg di Tiramina.

Nei ratti trattati aggiungendo alla dieta con Tiramina o Tirosina l'antistaminico alla dose di 2-6 mg/100g di RP 32-77 o di Antadril alla dose di 0,5-1,5 mg/100 g si osserva che l'azione tossica e letale della Tiramina e della Tirosina, vengono tanto più inibite quanto più alta è la dose di antistaminico impiegata, come risulta chiaramente dal quadro seguente: ove sono stati adoperati ratti appena divedzi.

Un ultimo gruppo di ratti di età maggiore (50 giorni circa) trattato con le stesse dosi di Tiramina e di Tirosina e con le stesse dosi di antistaminici non ha risentito che in minima parte l'effetto tossico delle dette sostanze e non si è avuta la morte di nessun animale.

Considerazioni e conclusioni

Dai risultati ottenuti nelle nostre esperienze ci appare evidente come la Tiramina e la Tirosina somministrate con la dieta esplichino nei ratti una azione tossica che è tanto più manifesta quanto più alte sono le dosi adoperate e quanto minore è l'età dei ratti.

L'azione tossica di queste sostanze viene indebolita, ritardata o abolita dagli antistaminici somministrati a dosi convenienti.

L'antistaminico somministrato da solo alla stessa dose usata negli esperimenti, non ha provocato azione tossica come dimostrano i controlli in cui l'alvo dei ratti trattati con il solo antistaminico si è comportato come quello dei ratti che non avevano avuto nessun trattamento.

<sup>1</sup> La Tiramina e la Tirosina adoperate in questi esperimenti ci sono state gentilmente fornite dalla casa Roche di Basilea.

Dose	N. dei Ratti	Risultati dopo 12 h	
		N. delle scariche	Azione tossica
Tiramina mg 300 RP 32-77 mg 1 (Antadril mg 0,5)	3	2-3 fluide	azione letale
Tiramina mg 300 RP 32-77 mg 2 (Antadril mg 1)	3	2-3 fluide	azione letale
Tiramina mg 300 RP 32-77 mg 3 (Antadril mg 1,5)	3	8-10 fluide	- + +
Controlli			
Tiramina mg 300	3	2-3 fluide	azione letale
RP 32-77 mg 3	3	5-6 normali	- - -
(Antadril mg 1,5)	3	5-6 normali	- - -
(- - - -)	3	5-6 normali	- - -
Tirosina mg 500 RP 32-77 mg 1 (Antadril mg 0,5)	3	10-12 fluide	+ + +
Tirosina mg 500 RP 32-77 mg 2 (Antadril mg 1)	3	8-10 fluide	- + +
Tirosina mg 500 RP 32-77 mg 3 (Antadril mg 1,5)	3	6-8 poltacee	- - +
Controlli			
Tirosina mg 500	3	2-3 fluide	azione letale
RP 32-77 mg 3	3	5-6 normali	- - -
(Antadril mg 1,5)	3	5-6 normali	- - -
(- - - -)	3	5-6 normali	- - -

N.B. I ratti trattati con 300 mg di Tiramina e 3 mg di RP 32-77, sono morti a distanza di 48 h dall'inizio dell'esperimento. - I ratti trattati con 500 mg di Tirosina ed RP 32-77 alla dose di 1 e 2 mg sono morti a distanza di circa 72 h dal trattamento; gli altri trattati con 3 mg di RP 32-77 sono sopravvissuti.

Da quanto sopra possiamo, quindi, concludere:

1° Gli antistaminici esplicano azione antitossica e antidrastica probabilmente perchè attivano l'azione deaminizzante degli enzimi della mucosa intestinale e degli altri visceri dell'organismo, rendendo così inattive le sostanze tossiche adoperate.

2° Vari dati sono in favore dell'uso di sostanze ad azione antistaminica nelle sindromi da intossicazione da Tiramina e da Tirosina.

J. MULÈ e L. GARUFI

Istituto di I Clinica Pediatrica e Clinica Malattie infettive dell'Università di Roma, 1° giugno 1950.

Summary

Tyramine and Tyrosine given with food produce in rats a lethal and toxic syndrome which varies in intensity according with the dose given and the age of the rats: toxic and lethal activity is greater in rats just weaned. Substances with antihistaminic activity: RP 32-77 and Antadril, either abolish or inhibit the lethal and toxic activity of Tyramine and Tyrosine, showing a more evident activity when the dose used is greater.

The antitoxic activity of the substances with an antihistaminic activity seems to be connected with their possible capacity for activating the amino-oxydase of the intestine and viscera of the entire organism.



## Salicylates, Stress and Cortisone

Working with salicylate in rheumatic fever we could demonstrate that the effect of large salicylate doses essentially differs from that of smaller ones.

In the case of *large* doses of salicylate the non-specific defense mechanism of the organism is remarkably activated. According to our experiments performed in animals as well as in man, a large dose of salicylate mobilizes the cortisone-compound F system, whereas with the application of *small* doses such an effect could not be demonstrated. The significance of these observations relating to rheumatic fever and allied disorders is well known<sup>1</sup>.

To prove this statement we shortly report out investigations carried out on 89 rats (including controls) and 27 men.

### (A) EXPERIMENTS ON RATS

#### (I) *The effect of large doses*

Giving 500–600 mg salicylate subcutaneously pro kg body weight to albino rats weighing 140 to 180 grams:

(a) *The absolute count of eosinophil cells* decreases to 70 to 90 per cent of their initial number in the fourth hour (THORN-test<sup>2</sup>) (9 cases).

(b) *The histological signs of SELYE's alarm reaction* can be demonstrated in thymus, spleen, adrenals as well as the *C-vitamine* depletion of, and the *discharge of lipids* from, the adrenal cortex<sup>3</sup> (3 cases).

(c) *The acute formaline test* described recently by SELYE<sup>4</sup> gives negative (or minimal) response 5–6 hours after the salicylate was injected. The marked hyperæmia and œdema following the subaponeurotic application of 0.1 cm<sup>3</sup> of 1 per cent formaldehyde fails to develop (7 cases). According to SELYE, ACTH, cortisone, and stresses exert similar effects.

(d) Negative responses were also gained with our *hyaluronidase limb-œdema test*<sup>5</sup>. After subaponeurotic administration of 1 gamma pro 1 gram body weight of hyaluronidase (Schering), neither padded œdema and hyperæmia of the foot back nor swelling of the thigh develops on animals treated with salicylate 5–6 hours before (9 cases). ACTH, and cortisone 4–4 mg pro 100 g exerted *milder* effects in this test, whilst neoantergan (Specia) acted similarly (5 cases).

(e) A few tests with 200 gammas of *histamine* using the same technic (c, d) also gave negative (or minimal) responses when pretreated with salicylate (3 cases)<sup>6</sup>.

(f) The eosinophilic response fails to occur, and the reactions described in paragraphs c, d, and e, are entirely *positive* in salicylate-treated rats if *bilateral adrenalectomy* was performed 2–5 days before (4 cases). It is worthy of mention that the eosinophil count markedly increased in all of the adrenalectomized rats after salicylate-stress, this increase being 1.5 to 5.5-times their initial number. ACTH cannot produce this reaction. After administering 3–3 mg to the same adrenalectomized animals the eosinophilic count remained unchanged. Several animals perished after salicylate-stress.

### (II) *The effect of small doses*

Doses of 200–300 mg pro kg body weight are always *insufficient* and do not produce the reactions described in a, b, c, d, and e (24 cases). The corresponding serum values are about 20 mg per cent in the group I, and about 35–55 mg per cent in the II.

### (B) EXPERIMENTS IN MEN

*The absolute eosinopenia appears and increases with elevation of the serum salicylate level.* Small salicylate doses with serum levels of the 4<sup>th</sup> hour at 20–30 mg per cent and below (4–5 g of salicylate) did not produce any fall of the eosinophils (16 cases), while in the case of levels of 30–35 mg per cent (6 g single dose), the decrease is about 50 per cent of the original (8 cases). *Higher levels* (7–10 g within 4–5 hours) are accompanied with more pronounced diminution of the absolute eosinophil count (3 cases). Fractionation of doses is disadvantageous in this respect. According to THORN, FORSHAM *et al.*, this decrease indicates mobilization of adrenocorticotrophine and/or cortisone and compound F. There are no differences between rheumatic fever cases, rheumatoid arthritis patients, and normal persons respectively. It is to be noted that repeated doses of salicylate cannot provoke eosinopenia regularly, but it is known that cortisone too behaves in the same manner<sup>1</sup>.

FORMAN, SEIFTER, and EHRICH<sup>2</sup> suggested already that a large salicylate dose could provoke an alarm reaction.

On the one hand our results shed a new light on COBURN's much contested report relating to therapeutic significance of a high salicylate level<sup>3</sup>, and on the other hand they again stress the important role which in the course of the last few years has been attributed to the "alarm reaction", i. e. the aspecific reaction of the organism: "the general adaptation syndrome", elaborated in details by SELYE.

"Cortisone-like effect", "antihyaluronidase-effect", "antihistamine-effect", "alarm-reaction", *can all partly be accounted for in a similar manner.* The favourable clinical effect obtained with salicylate in several diseases, which so far could hardly be interpreted satisfactorily, may also be explained in this way. However, it must be emphasized that, as concerns *prolonged treatment*, the results of these experiments can only be transferred with reserve. The quantitative estimation of cortisone etc. in urine is needed.

Details of this work will appear as supplement to the *Acta Medica Scandinavica*, Stockholm.

The authors are greatly indebted to Prof. G. HETÉNYI for aid in this work and to Prof. H. SELYE for cortisone and ACTH. They thank the Schering Corporation for the hyaluronidase (containing 174 TRU in a mg).

E. KELEMEN, M. MAJOROS, J. IVÁNYI, and K. KOVÁCS  
Medical Department, Szeged University, Szeged,  
Hungary, June 5, 1950.

### *Zusammenfassung*

Die vorliegenden Tierexperimente und Versuche an Menschen stützen die Auffassung, daß "große" Salicylatdosen imstande sind, Cortison usw. in wirksamen Mengen zu mobilisieren. Kleinere Quantitäten von Salicylat geben keinen solchen Effekt. Es scheint sich um eine unspezifische Abwehrreaktion zu handeln, in der die Nebennierenrinde eine bedeutsame Rolle spielt.

<sup>1</sup> R. G. SPRAGUE, M. H. POWER, H. L. MASON, A. ALBERT, D. R. MATHIESON, P. S. HENCH, E. C. KENDALL, CH. H. SLOCUMB, and H. F. POLLEY, *Arch. Int. Med.* 85, 199 (1950).

<sup>2</sup> C. FORMAN, J. SEIFTER, and W. E. EHRICH, *Amer. J. Med. Sci.* 215, 714 (1948).

<sup>3</sup> A. F. COBURN, *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 73, 435 (1943).

<sup>1</sup> P. S. HENCH, E. C. KENDALL, CH. H. SLOCUMB, and H. F. POLLEY, *Arch. Int. Med.* 85, 545 (1950).

<sup>2</sup> L. RECANT, D. M. HUME, P. H. FORSHAM, and G. W. THORN, *J. Clin. Endocrinology* 10, 187 (1950).

<sup>3</sup> H. SELYE, *Textbook of Endocrinology* (Acta Endocrinol., Montréal, 1947).

<sup>4</sup> H. SELYE, *Brit. Med. J.* 2, 1129 (1949).

<sup>5</sup> E. KELEMEN, J. IVÁNYI, and M. MAJOROS, unpublished.

<sup>6</sup> Experiments on guinea-pigs also showed that the large salicylate doses protect the animals by a nonspecific way.

## Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

### Gesammelte mathematische Abhandlungen

Bd. I.

Von LUDWIG SCHLÄFLI (1814–1895)

392 Seiten, 2 Abbildungen

(Verlag Birkhäuser AG., Basel 1950)

(Leinen geb. Fr. 54.–)

La parution du premier volume des œuvres de L. SCHLÄFLI, dont la publication fut décidée en 1937 par la Société Mathématique Suisse, et confiée par elle à un comité d'éminents géomètres, ne manquera d'être accueillie par les mathématiciens comme un très heureux événement.

Bien des questions dans la matière de ce premier volume, toutes empreintes d'idées fécondes, appellent, en effet, de nouvelles recherches et de futurs développements. C'est que les problèmes dont s'est occupé SCHLÄFLI se rattachent directement à plusieurs des grands mouvements au travers desquels les mathématiques se métamorphosent et s'élargissent. Nous pensons particulièrement à sa *Théorie des continus de dimension supérieure*, magistrale ébauche d'une géométrie euclidienne à  $n$  dimensions. Le mémoire de SCHLÄFLI sur ce sujet, qui remplit plus d'une moitié de l'ouvrage, est probablement l'un des premiers où l'on trouve exposés sous une forme presque moderne d'importants résultats d'algèbre linéaire, et le calcul d'éléments géométriques complexes, comme le volume d'une pyramide généralisée la surface et le volume d'une hypersphère, ainsi que bien d'autres caractéristiques des polyèdres.

À côté de ce mémoire fondamental se trouvent plusieurs travaux de grand intérêt, dont sans doute le plus remarquable est celui qui concerne la théorie des fonctions elliptiques, fondée sur des produits doubles infinis. Signalons aussi une étude très poussée et captivante des coefficients de STIRLING, ou nombres de BERNOULLI supérieurs.

La lecture des différents mémoires contenus dans ce premier volume est largement facilitée par les notes et les explications des rédacteurs. Nous espérons qu'ils nous donneront bientôt les volumes II et III de cette splendide édition, toute marquée du soin que la maison Birkhäuser apporte à ses travaux. Nous ne saurions manquer, enfin, de mentionner la superbe reproduction d'un portrait de SCHLÄFLI, qui figure en frontispice de ce magnifique ouvrage.

A. AMMANN

### Theorie und Lösungsmethoden des Mehrteilchenproblems der Wellenmechanik

Von P. GOMBÁS

268 Seiten, 20 Abbildungen, 11 Tabellen

(Verlag Birkhäuser AG., Basel 1950)

(Leinen Fr. 29.50)

Das Problem der stationären Zustände mehrerer, gleichartiger Teilchen auf Grund der Wellenmechanik, im wesentlichen also das Problem der möglichen Zustände der Elektronenhüllen von Atomen, Ionen und Molekülen, stellt eine der wichtigsten Fragen dar, welche die Wellenmechanik grundsätzlich zu beantworten erlaubt. Von der grundsätzlichen Beantwortung bis zur

expliziten Lösung konkreter Fälle ist aber gerade hier ein weiter und von mathematischen Schwierigkeiten stark behinderter Weg, für dessen Beschreibung uns das vorliegende Buch von GOMBÁS einen sachkundigen und zuverlässigen Führer zur Verfügung stellt.

Nachdem ein erster Teil in kurzen Zügen, aber in klarer Form die allgemeinen Grundlagen des wellenmechanischen Mehrteilchenproblems zusammenstellt, bringt der zweite Teil die speziellen Verfahren, welche zur Lösung konkreter Probleme ausgearbeitet worden sind, und zwar im einzelnen das Variationsverfahren, die Methode des «self consistent field» sowohl in der HARTREESchen wie in der FOCKschen Form, und die von THOMAS und FERMI stammende statistische Methode mit allen Erweiterungen.

Sämtliche Verfahren werden an durchgeführten Beispielen erläutert, und darüber hinaus verschafft eine reichhaltige Literaturübersicht einen guten Überblick darüber, welche Fragen mit den einzelnen Methoden jeweils behandelt und gelöst worden sind.

Da der Verfasser mit großem Erfolg bestrebt ist, durch klaren Aufbau und verständliche Ausdrucksweise den doch teilweise recht schwierigen Stoff auch Lesern zugänglich zu machen, die nicht zu den Spezialisten auf diesem Gebiet gehören, füllt er mit dem Buch eine seit langem bestehende Lücke aus und erwirbt sich sicher den Dank eines weiten Kreises engerer und ferner stehender Interessenten.

W. BRAUNBEK

### Vibrations. Acoustique

Par EUGÈNE DARMOIS

280 pp. avec 209 figures

(Edité par la Société d'édition d'enseignement supérieur,  
Paris 1948)  
(fFr. 1250.–)

Es handelt sich um ein ganz vortreffliches Buch, dessen sorgfältiges Studium wir jedem angelegentlich empfehlen möchten, der sich mit moderner Akustik abgeben will. Es ist dem Autor gelungen, auf nur 280 Seiten (bei 209 z. T. recht unscheinbaren Illustrationen) eine so treffende Darstellung der Schallehre zu geben, wie das beinahe nur der französischen Klarheit bei äußerster sprachlicher Konzentration möglich ist. Mag man zunächst einmal Stichproben aus recht schwierigen akustischen Gebieten, wie z. B. der Theorie der Schwingungen von Saiten, Stäben, Platten und Membranen; oder aus dem Gebiete gekoppelter Systeme, ferner über Relaxationsschwingungen oder Ultraschall versuchen, überall gibt DARMOIS unter geistvoller Weglassung der Nebenerscheinungen das *Wesen* der Probleme, die er mit einfachen mathematischen Hilfsmitteln möglichst immer quantitativ zu behandeln versteht.

Wir können uns nicht versagen, den Hauptinhalt der dreizehn Kapitel, in die das Buch geschickt eingeteilt ist, hier kurz aufzuzählen: Harmonische Schwingungen und ihre Zusammensetzung, Wellenlehre, Schwingungen fester Körper (Elastizitätstheorie), erzwungene Schwingungen und Resonanz, Analogien zwischen mechanischen und elektromagnetischen Schwingungen (Ersatzschaltungen), Mikrophone, Lautsprecher, piezoelektrische und magnetostruktive Hilfsmittel, Schwingungs-



zeuger, Schallenergie, Intensität und gehörte Lautstärke, Frequenzmessung, Tonleitern, Klanganalyse, Ultraschall, Schallregistrierung.

Das Buch ist im besondern für Studierende bestimmt und enthält, als sehr wertvolle Beigabe zu jedem Kapitel einen Abschnitt mit Fragen und Problemstellungen, wobei die Lösungen beigelegt sind und oft Andeutungen über die Lösungswege gegeben werden. Ein Student, der das Buch gewissenhaft durchgearbeitet hat, wird bei minimem Geschick auf experimentellem Gebiete, imstande sein, auch schwierigere akustische Probleme selbständig theoretisch und praktisch zu behandeln. Wir empfehlen daher das Buch von DARMOIS auch angelegentlich den vielen jungen Ingenieuren und Technikern, die sich heute dem Nachrichtendienst widmen. Damit nun über keine Unklarheit über die Grenzen des Lehrbuches entsteht, soll hier hervorgehoben werden, daß innerhalb des Umfanges von 280 Seiten und entsprechend dem speziellen Zwecke, die Zöglinge höherer französischer Schulen in die Schallehre einzuführen, einige Gebiete der Akustik haben vernachlässigt werden müssen. Dies ist in gewisser Weise bezüglich der physiologischen Akustik (neueste Hörtheorien) und der Raumakustik der Fall. Architekten werden wohl wertvolle Grundlagen, nicht aber die eigentliche Bauakustik hier behandelt finden.

Die schwierigen Nachkriegsverhältnisse in Frankreich haben dem Werke, das eine schönere Ausgestaltung verdient hätte, nur sehr bescheidenes Papier gegönnt und auf den eingefügten Bildertafeln manche allzusehr durch Retuschen entstellte Figuren beigegeben. Allerdings ist dafür der Preis von fFr. 1250.— sehr niedrig angesetzt.

H. ZICKENDRAHT

## The Alkaloids

(Chemistry and Physiology)

By R. H. F. MANSKE and H. L. HOLMES

Vol. I, pp. 525

(Academic Press, New York, 1950) (\$10.—)

Nach den Angaben der Herausgeber soll das vollendete «Handbuch» 5 Bände umfassen, wobei für die ersten 4 Bände bereits eine kurze Inhaltsübersicht gegeben wird. Leider vermißt man dabei die große Gruppe der in ihrer Struktur noch nicht aufgeklärten Alkaloide, deren eingehende Behandlung außerordentlich reizvoll wäre. Es ist anzunehmen, daß Band V die bis jetzt nicht berücksichtigte «Physiologie» umfassen wird. Der vorliegende erste Band umfaßt folgende Kapitel: Vorkommen und Isolierung der Alkaloide (MANSKE), Alkaloide in der Pflanze (JAMES), Pyrrolidinalkaloide (MARION), Senecioalkaloide (LEONARD), Pyridinalkaloide (MARION), Tropanalkaloide (HOLMES) und Strychnosalkaloide (HOLMES). Bedauerlicherweise richtet sich das Buch ausschließlich an den Chemiker, wogegen es dem Pharmazeuten, dem Pharmakologen und dem Biologen wenig bietet. Über den Wert von mehr als 100 Seiten «Tabellen der physikalischen Konstanten» kann man verschiedener Auffassung sein, sicherlich sind Angaben über Kristallformen meist so ungenau, daß sie besser weggelassen werden. Leider fehlt ein allgemeines Kapitel über Arbeitsmethoden in der Alkaloidchemie, in welchem sehr viel Anregendes gesagt werden könnte und das namentlich für den Studenten, der sich in diese Materie einarbeiten muß, von sehr großem Wert wäre.

Ogleich der vorliegende Band dem Ziel eines eigentlichen Handbuchs noch nicht völlig nahekommt, muß

doch anerkannt werden, daß die einzelnen Kapitel gut geschrieben und daß die Ausstattung, die die Academic Press dem Buch gegeben hat, eine vorzügliche ist.

E. SCHLITTLER

## Die Pilze

Grundzüge ihrer Entwicklungsgeschichte und Morphologie

Von E. GÄUMANN

383 Seiten mit 440 Abbildungen

(Verlag Birkhäuser AG., Basel 1949) (brosch. Fr. 34.—, Leinen Fr. 38.—)

Das Buch macht schon durch seine ganze Ausstattung, insbesondere aber durch die hervorragend ausgeführten Abbildungen, die dem Text in fast verschwenderischer Fülle beigegeben sind, einen vorzüglichen Eindruck. Dieser verstärkt sich, wenn man dem Text näher tritt, der sich, wo man auch lesen möge, durch Klarheit und Übersichtlichkeit auszeichnet. Der Verfasser hat, wie er im Vorwort bemerkt, Kürze angestrebt. Es sollten die wichtigeren Tatsachen aus der Entwicklungsgeschichte und Morphologie der Pilze zur Darstellung gelangen. Gleichwohl vermittelt das Buch einen Überblick auch über die außerordentliche Mannigfaltigkeit dieser Pflanzen, die so sehr zum Verweilen bei Einzelheiten verlockt. Jedenfalls ist es dem Verfasser bestens gelungen, den schwierigen Mittelweg zu finden, der sich zwischen der Wiedergabe der großen Leitlinien und der Berücksichtigung des interessanteren Details hindurchzieht.

Der Stoff wird in systematischer Anordnung dargeboten. Die einzelnen Gruppen, in die sich das System der Pilze gliedert, sind also in ihrer genetischen Reihenfolge behandelt. Dabei wurden, mit Rücksicht besonders auf die Bedürfnisse der Pflanzenpathologie, auch die Archimyceten im Zusammenhang mit den echten Pilzen, also den Phycomyceten, den Ascomyceten und den Basidiomyceten, besprochen. Ein Anhang befaßt sich schließlich noch mit den *Fungi imperfecti*.

Auch das Register ist mit großer Sorgfalt hergestellt worden, was deshalb wichtig ist, weil die Fachausdrücke nicht einheitlich erklärt, sondern jeweils bei Besprechung der Gruppen, auf die sie sich beziehen, eingeführt werden.

Kurz mag das Literaturverzeichnis erscheinen, was seinen Grund aber darin hat, daß in der Regel nur die neueren Arbeiten zitiert wurden. Die älteren Untersuchungen findet der Leser, dessen Interessen weiter reichen, in den Schrifttumshinweisen der zitierten Untersuchungen.

Überblickt man das gesamte Buch, das sehr viel mehr Stoff bietet, als sein Umfang ahnen läßt, so fällt die Beschränkung auf, die sich der Autor bei der Abfassung der kaum zwei Seiten füllenden Einleitung auferlegt hat. Hier ist er bei aller Anerkennung, die man seinem Streben nach Kürze zollen wird, vielleicht doch zu weit gegangen. Gerade für denjenigen, der sich der Welt der Pilze als Anfänger nähert, wäre eine Einführung in die allgemeinen Gestaltungsprinzipien, die die Organisation der Pilze beherrschen, höchst wertvoll gewesen. Denn auch in dieser Hinsicht, nicht nur in der mit der Gesamtorganisation natürlich eng verknüpften Entwicklungsgeschichte, zieht sich ein roter Faden durch die Mannigfaltigkeit des Pilzreiches.

W. TROLL

# Informations - Informationen - Informazioni - Notes

## STUDIORUM PROGRESSUS

### Physiological Evidence for a Cochleo-Cochlear Pathway in the Cat<sup>1</sup>

By ROBERT GALAMBOS, WALTER A. ROSENBLITH, and MARK R. ROSENZWEIG, Cambridge<sup>2</sup>, Mass.

The identification of the places in the brain where functional interaction between the ears takes place constitutes one of the major problems of acoustic neurology. The known anatomical projection of the two ears through the nervous system affords many possibilities for interaction between them to occur. Each ear, as is well known, evokes electrical activity as early in the pathway as the trapezoid body and lateral lemniscus<sup>3</sup>, and the presumption that interactions between them here and elsewhere are of importance for binaural (as opposed to monaural) phenomena is usually conceded.

The purpose of this communication is to demonstrate that one of the places where interactions occur may be the cochlea itself. The argument rests upon the observation that the earliest neural event recordable in the auditory pathway can be modified by a stimulus applied to the contralateral ear. It is supported by the fact that an electrical event, most likely the result of neural processes, can be recorded at the cochlea when a stimulus is delivered to the contralateral ear. The evidence to be presented is thus consistent with the concept that each cochlea projects to its mate on the opposite side, and that a cochleo-cochlear pathway does indeed exist.

#### Materials and methods

Observations were made on six cats in this study. They were anesthetized with dial-urethane (0.7 cm<sup>3</sup>/kg).

The stimuli employed were square pulses 0.1 msec in duration, transduced by Permoflux (PDR-10) earphones and delivered at a rate of 1 per second. An earphone was connected to each ear by plastic tubing 6 cm long inserted into the external meatus and tied securely in place. An attempt was made to have the sound systems deliver symmetrical stimuli to the two ears.

For recording, a grid-to-ground amplifier was used. The cochlear electrode consisted of a platinum or silver wire in contact with the round window or its niche. The ground lead was uniformly the head holder securing the animal. The potentials obtained were recorded photographically from the tube face of a DuMont 247 oscilloscope in the usual manner.

#### Results

Fig. 1A shows the response to a click as it was recorded at the round window of the cochlea. The stimulus

artifact (s) marks the delivery of the electrical pulse to an earphone. Some 0.3 msec later—an interval accounted for largely by sound conduction to the eardrum—a deflection (M) most probably reflecting the activity of the hair cells (microphonic) begins. There then occurs a large negative deflection (N<sub>1</sub>) described by DERBYSHIRE and DAVIS<sup>1</sup> as neural in origin, an interpretation that has not been seriously questioned since that time. It is a very early event in that about 1 msec separates its peak from the peak of the initial microphonic deflection. This latency can be increased by cooling the animal, and the deflection can be abolished by a sufficiently large reduction of temperature<sup>2</sup>. Its magnitude is cut down in the presence of masking noises (DERBYSHIRE and DAVIS, *op. cit.*) and after exposure to loud sounds<sup>3</sup>. Its electrical polarity is not changed (as is that of the microphonic) when the direction of the initial motion of the earphone diaphragm is reversed. It is the component of the round-window response most sensitive to anoxemia (unpublished data from this laboratory), and it is the first to disappear when the animal dies. These items of evidence point to the deflection labeled N<sub>1</sub> in Fig. 1A as related to the first neural event in the acoustic pathway.

The precise anatomical origin of the potential N<sub>1</sub> is as yet unsettled. It has been ascribed to action potentials in the dendritic processes of the auditory nerve (DERBYSHIRE and DAVIS, *op. cit.*), and more recently to the «cell bodies of the spiral ganglion within the modiolus»<sup>4</sup>. Regardless of its exact source, the deflection N<sub>1</sub> is generally assumed to indicate a synchronized discharge of the primary afferent neurons.

The experiment summarized in Fig. 1 illustrates the effect of a prior click delivered to the opposite ear upon the electrical events aroused by a click to the ear on which the electrode is located. To simplify the description of the experiment, the ear on which the electrode lies will hereafter be referred to as the *ipsilateral* ear, and its mate on the other side will be termed the *contralateral* ear.

In the experiment summarized in Fig. 1, we find the response evoked by an ipsilateral click in the normal animal (Fig. 1A) to be appreciably modified by a click delivered 1.25 msec earlier to the contralateral ear (Fig. 1B). The main difference between records A and B is in the remarkable reduction of N<sub>1</sub>. Record C illustrates that the contralateral ear, when stimulated alone, may produce a potential recordable across the head, at the ipsilateral cochlea.

The records in the right-hand column of Fig. 1 were taken after the contralateral cochlea was destroyed by inserting a probe through its round window, cracking the cochlea open, and injecting formalin into the cochlear wound. Otherwise, conditions of stimulating and recording were unchanged. Fig. 1D shows that this

<sup>1</sup> This research was carried out at the Psycho-Acoustic Laboratory, Harvard University, under contract with the Office of Naval Research, U.S. Navy (Contract N5ori-76, Project NR142-201, Report PNR-97). Reproduction for any purpose of the U.S. Government is permitted.

<sup>2</sup> Psycho-Acoustic Laboratory, Harvard University, Cambridge, Mass.

<sup>3</sup> L. J. SAUL and H. DAVIS, *Arch. Neurol. Psychiat.* 28, 1104 (1932). — H. W. ADES and J. M. BROOKHARDT, *J. Neurophysiol.* 13, 189 (1950).

<sup>1</sup> A. J. DERBYSHIRE and H. DAVIS, *Amer. J. Physiol.* 113, 476 (1935).

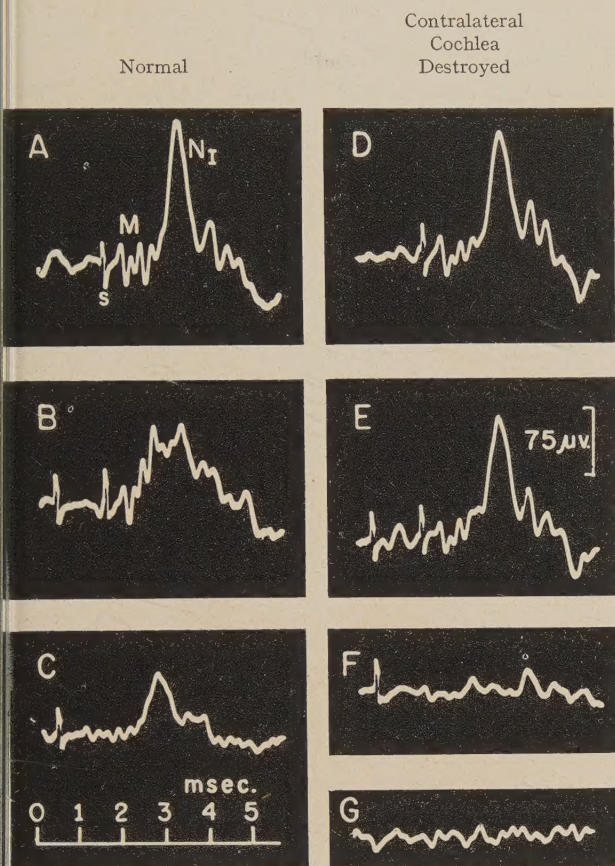
<sup>2</sup> L. KAHANA, W. A. ROSENBLITH, and R. GALAMBOS, *Amer. J. Physiol.* (in press).

<sup>3</sup> J. E. HAWKINS, JR., and M. KNIAZUK, *Science* 111, 567 (1950). — W. A. ROSENBLITH, R. GALAMBOS, and I. J. HIRSH, *Science* 111, 569 (1950).

<sup>4</sup> H. DAVIS, B. E. GERNANDT, and J. S. RIESCO-MACCLURE, *J. Neurophysiol.* 13, 73 (1950).



operation had little effect upon the response to a click delivered to the intact ipsilateral ear. Record *E* demonstrates that the contralateral click no longer depressed  $N_1$ , and record *F* shows that a potential was no longer evoked by the contralateral click alone.



P-74, R.R.W.

Fig. 1. - Physiological evidence for a cochleo-cochlear pathway. Electrode on right round window throughout. In *A* the electrical response to an ipsilateral click is reproduced. A stimulus artifact (*s*) indicates the delivery of the electrical pulse to the earphone. The microphonic event (*M*) is succeeded by the first neural event in the acoustic pathway ( $N_1$ ). In *B* a click delivered 1.25 msec earlier to the opposite ear (its artifact is at the left of the trace) is seen to reduce the magnitude of  $N_1$ . In *C* the click to the contralateral (left) ear gives rise to an electrical event at the electrode. This is the contralateral potential defined in the text. After the contralateral cochlea was destroyed, the stimulus conditions of *A*, *B*, and *C*, respectively, were repeated in *D*, *E*, and *F*. The response to an ipsilateral click remained unchanged (*D*). However, a contralateral click no longer caused a reduction of  $N_1$  (*E*), and the contralateral potential no longer appeared (*F*). The noise level of the recording system is shown in *G*. The approximate intensities of the clicks used were: ipsilateral, 40 db above its threshold; contralateral, 60 db above its threshold. The two ears had approximately equal thresholds.

This experiment obviously suggests that neural events aroused by a contralateral click, and these alone, are responsible for both the depression of  $N_1$  in the opposite ear and the small potential recordable there. We have examined this small potential (hereafter called *contralateral potential*) in an attempt to define its origins more adequately.

The contralateral potential disappears, as we have seen (Fig. 1 *C* and *F*), when the contralateral cochlea is destroyed. This has been demonstrated in a number of

animals. It may also be abolished, and this time reversibly, simply by cooling the contralateral ear. (To cool the cochlea, ethyl chloride was sprayed into its bulla. A thermistor<sup>1</sup> located there showed in the experiment of Fig. 2 a temperature of 35° C before cooling, 11 to 12° C at the minimum point, and 35° C again 5 minutes after cooling began.)

The effects of local cooling of the cochlea are shown in Fig. 2. The electrical response of the cooled end organ to a click shows  $N_1$  reduced (Fig. 2 *B*); in other words, cooling has prevented the arousal of auditory nerve discharges on the cooled side. Approximately coincident with the reduction of  $N_1$ , the contralateral potential also is reduced (Fig. 2 *E*). Both potentials return when the cochlear temperature is restored to normal (Figs. 2 *C* and *F*), and they do so, to a first approximation, along the same time course. Since the only important effect of cooling the contralateral cochlea is to prevent neural discharges from originating within it, the conclusion that the voltage recordable in the opposite ear is a neural

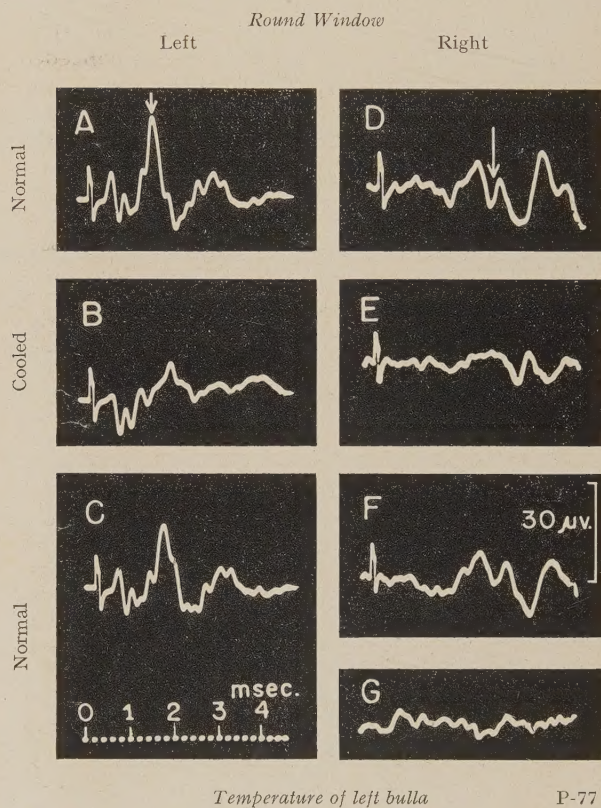


Fig. 2. - The effects of temperature upon  $N_1$  and the contralateral potential. Clicks delivered to the left ear throughout. The various deflections in *A* can be identified by consulting Fig. 1 *A*. The contralateral potential shown in *D* is the event recorded at the right round window when the left ear is stimulated (compare with Fig. 1 *C* where its configuration is different). When ethyl chloride was sprayed into the left bulla to cool the left cochlea, the neural event evoked by the click was sharply reduced (*B*) and so was the contralateral potential (*E*). Rewarming of the left cochlea resulted in a return of  $N_1$  (*C*) and of the contralateral potential (*F*). The voltage gain in recording from the right round window was ten times greater than that for the left round window. The noise level for the right round window records is shown in *G*. The arrows in *A* and *D* indicate the points from which an estimate of the latencies of the ipsilateral (*A*) and contralateral (*D*) potentials can be made.

<sup>1</sup> J.A. BECKER, C.B. GREEN, and G.L. PEARSON, *Electrical Engineering* 65, 711 (1946).



event appears inescapable. A comparison of the latencies of ipsilateral and contralateral potentials yields a figure of the order of 1 msec for the minimum neural conduction time from one cochlea to the other (e. g. Figs. 2A and D).

The neural structures that generate the contralateral potential cannot as yet be specified. A peripheral location is indicated in order to explain the interaction at the level of the first neural event (Fig. 1B); it would appear necessary to project the neural pathway from the opposite cochlea into the region of the cell bodies of Corti's ganglion or perhaps into the organ of Corti itself.

A few further facts about these phenomena may be mentioned here. In some experiments the depression of  $N_1$  by a prior contralateral click is small enough to be easily missed unless it is specifically looked for; the depression pictured in Fig. 1B is the best example thus far observed. The contralateral potential, similarly, shows considerably variability from animal to animal (compare Figs. 1C and 2D); but it was invariably identified when searched for. To abolish the contralateral potential, the contralateral cochlea must indeed be destroyed. Preliminary studies, finally, have shown that the prior contralateral click may have an effect upon the ipsilateral  $N_1$  potential for several milliseconds.

While many points still remain to be settled, these experiments, taken together, provide a considerable weight of evidence for the following conclusions<sup>1</sup>:

(1) Each cochlea is connected by a neural pathway to its mate.

(2) This cochleo-cochlear pathway delivers impulses across the medulla and into the opposite cochlea in a time of the order of 1 msec.

(3) The cochleo-cochlear pathway enables the neural events aroused in one ear to interact with, and to modify, the eighth nerve discharge aroused by an acoustic stimulus applied to the opposite ear. This statement rests, of course, upon the assumption discussed earlier that  $N_1$  reflects the activity at the first neuron in the auditory pathway.

Stimulus and recording conditions, while different for the experiments of Figs. 1 and 2, were unchanged within a given experiment.

The results and the experimental controls allow us, therefore, to reject three alternative explanations of the observed phenomena:

(1) The contralateral potential cannot be due to acoustic "leakage" of the contralateral stimulus around the head to the ipsilateral ear. If such cross-hearing were the explanation, there would still have been responses after the contralateral ear had been cooled or destroyed (Figs. 2E and 1F). Furthermore, in each experiment the threshold for cross-hearing was found to be substantially above the intensity that was used for the effective contralateral click.

(2) The contralateral potential can hardly be due to electrical spread of a potential generated on the other

side of the head. Such spread would be essentially instantaneous; however, the contralateral potential occurs after activity has almost ceased in the ear to which the stimulus was delivered (compare Figs. 2A and 2D).

(3) Finally, simple algebraic summation of the potentials shown in Figs. 1A and C, does not explain the depression of  $N_1$  shown in Fig. 1B.

The anatomical possibilities for a cochleo-cochlear pathway require brief mention. So far as is known, the efferents necessary to support the concept of a cochleo-cochlear pathway are not described as such by anatomists. Neurons passing to the cochlea have, however, been reported to exist, and recently the details of an efferent tract passing from the (contralateral) superior olive to the cochlea via the bundle of Oort have been admirably elucidated by RASMUSSEN<sup>1</sup>. These efferents take up a position within the cochlea identical with that of the internal spiral fibers (hitherto considered afferent in function), and some or perhaps all of them pass out to the region of the hair cells.

Whether this olivo-cochlear tract of RASMUSSEN is part of the cochleo-cochlear pathway required by the physiological evidence is, of course, neither supported nor denied by any of the information at hand. It is mentioned here merely to illustrate that a neural connection between the ears is by no means to be ruled out on anatomical grounds. The actual pathway involved, it should be pointed out, will meet the requirement of a minimum neural conduction time of the order of 1 msec.

### Zusammenfassung

1. Wird eine Elektrode an das runde Fenster der Katzenschnecke gelegt und wird ein Knack entweder dem rechten oder dem linken Ohre zugeleitet, so werden in jedem Falle registrierbare elektrische Potentiale hervorgerufen. Ein Knack, der dem in Bezug auf die Registrierelektrode ipsilateralen Ohr zugeleitet wird, gibt den bekannten Komplex von Mikrophon- und Nervenpotentialen. Kontralaterale Knacke verursachen Potentiale, die zeitlich etwas nachhinken und auch kleiner sind.

2. Das durch kontralaterale Knacke hervorgerufene Potential verschwindet dauernd, wenn die kontralaterale Schnecke zerstört ist. Es läßt sich durch vorübergehende Abkühlung der kontralateralen Schnecke reversibel herabsetzen. Diese Maßnahme reduziert auch die Entladungen im kontralateralen achten Nerv. Aus diesen und verwandten Beobachtungen läßt sich folgern, daß zwischen dem einen und dem andern Ohr eine Nervenverbindung besteht (cochleo-cochleare Bahn).

3. Eine Funktion der cochleo-cochlearen Bahn wird erörtert. Ein vorausgegangener Knack, der dem kontralateralen Ohr appliziert wird, setzt die von einem ipsilateralen Knack zu erwartenden nervösen Vorgänge herab.

4. Die in Betracht kommenden Zeitverhältnisse machen eine minimale cochleo-cochleare Überleitungszeit von der Größenordnung von 1 msec. wahrscheinlich.

<sup>1</sup> Note added in proof. Conclusions one and two may be attenuated by certain recent observations. Preliminary experiments indicate that the contralateral potential may still be recorded after transection of the ipsilateral auditory nerve. It is, however, abolished when the contralateral auditory nerve is cut. We await histological confirmation of the completeness of our nerve sections.

<sup>1</sup> G. L. RASMUSSEN, J. Comp. Neurol. 84, 141 (1946); Anat. Rec. 106, 69 (1950).



Neuerscheinungen - November 1950

## Die zweidimensionale Laplace-Transformation

Eine Einführung in ihre Anwendung zur Lösung von Randwertproblemen nebst  
Tabellen von Korrespondenzen

von

DIETRICH VOELKER  
Dr. rer. nat., Heidelberg

GUSTAV DOETSCH  
Professor, Freiburg i. Br.

260 Seiten mit 17 Figuren · In Ganzleinen geb. Fr. 43.-

*Inhalt. I. Teil:* Die zweidimensionale Laplace-Transformation und ihre Anwendung zur Lösung von Randwertproblemen. 1. Die grundlegenden Eigenschaften der  $L^2$ -Transformation. 2. Die partielle Differentialgleichung erster Ordnung mit zwei unabhängigen Variablen. 3. Einige spezielle Differentialgleichungen zweiter Ordnung. 4. Die allgemeine partielle Differentialgleichung zweiter Ordnung. 5. Systeme von partiellen Differentialgleichungen. 6. Partielle Differentialgleichungen mit drei unabhängigen Variablen. 7. Die Übertragung von Funktionalrelationen und Reihenentwicklungen.

*II. Teil:* Tabellen von Korrespondenzen. A. Korrespondenzen von allgemeinen Operationen. B. Korrespondenzen von speziellen Funktionen. C. Funktionsliste.

## Handbuch der Laplace-Transformation

VON GUSTAV DOETSCH, ord. Professor, Freiburg i. Br.

*Erster Band:*

### Die theoretischen Grundlagen der Laplace-Transformation

581 Seiten mit 40 Figuren · In Ganzleinen geb. Fr. 78.-

*Inhalt. I. Teil:* Grundlegende analytische und funktionentheoretische Eigenschaften der Laplace-Transformation. 1. Allgemeines über lineare Funktionaltransformationen und Grundbegriffe der Funktionalanalyse. 2. Allgemeine analytische Eigenschaften der Laplace-Transformation. 3. Allgemeine funktionentheoretische Eigenschaften der durch die Laplace-Transformation erzeugten Funktionen.

*II. Teil:* Die Umkehrung der Fourier- und Laplace-Transformation, die Parsevalsche Gleichung und verwandte Probleme. 4. Die komplexe Umkehrformel. 5. Formeln für das Partialintegral der Laplace-Transformation. 6. Die Parsevalsche Gleichung. 7. Bedingungen für die Darstellbarkeit einer Funktion als Laplace-Transformierte. 8. Weitere Umkehrformeln.

*III. Teil:* Eine Verallgemeinerung der Laplace-Transformation. 9. Die Cesàroschen arithmetischen Mittel der Laplace-Transformation und die  $\mathcal{Q}^{(h)}$ -Transformation.

*IV. Teil:* Die Laplace-Transformation spezieller Klassen von Funktionen. 10. Die Laplace-Transformation der ganzen Funktionen vom Exponentialtypus. 11. Die zweiseitige Laplace-Transformation (Mellin-Transformation) von analytischen Funktionen. 12. Die Laplace-Transformation von Funktionen der Klasse  $L^2$ .

*V. Teil:* Abelsche und Taubersche Sätze. 13. Abelsche Sätze über das Verhalten der Laplace-Transformierten an einer singulären Stelle im Endlichen. 14. Abelsche Sätze über das Verhalten der Laplace-Transformation für  $s \rightarrow \infty$ . 15. Abelsche Sätze für das komplexe Umkehrintegral. 16. Taubersche Sätze für die Laplace-Transformation.

Verlangen Sie bitte den ausführlichen Verlagsprospekt und das neueste wissenschaftliche  
Verlagsverzeichnis

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL



# Zeitschrift für angewandte Mathematik und Physik

*Journal of Applied Mathematics and Physics*  
*Journal de Mathématiques et Physique appliquées*  
ZAMP

Editores: J. ACKERET, E. BAUMANN, P. NIGGLI, P. SCHERRER, E. STIEFEL, F. STÜSSI H. ZIEGLER Redactor: R. SÄNGER

Inhalt von Nr. I/6:

*Zusammenfassende Berichte:* H. RUTISHAUSER, A. SPEISER, E. STIEFEL: Programmgesteuerte digitale Rechenggeräte (Elektronische Rechenmaschinen), II. Teil. (I. Teil erschien in ZAMP I/5) – *Originalarbeiten:* W. GLASER, O. BERGMANN: Über die Tragweite der Begriffe «Brennpunkte» und «Brennweite» in der Elektronenoptik und die starken Elektronenlinsen mit Newtonscher Abbildungsgleichung – N. ROTT: Flügelschwingungsformen in ebener kompressibler Potentialströmung – *Varia:* Zur Multiplikation reeller Zahlen (W. Eberl) – Buchbesprechungen.

Jahresabonnement (6 Nummern): Inland Fr. 28.–, Ausland Fr. 34.–, Einzelnummer Fr. 6.–  
Annual subscription (6 issues): Switzerland Fr. 28.–, other countries Fr. 34.–, single copy Fr. 6.–  
Abonnement annuel (6 numéros): Suisse Fr. 28.–, étranger Fr. 34.–, le numéro Fr. 6.–

Verlangen Sie bitte auf Grund dieses Inserates eine Gratis-Probenummer.

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL / SCHWEIZ

## MATHEMATIKER-BIOGRAPHIEN

Diese Beihefte der «Elemente der Mathematik» geben neben den wichtigsten Daten eine kurze Charakteristik und Würdigung der großen Mathematiker und an Beispielen eine Darstellung ihres Werkes. Jedes Heft hat einen Umfang von 24 Seiten (Format 17 × 24 cm) und kostet Fr. 3.50.

Beiheft Nr. 8

### Niels Henrik Abel

par OYSTEIN ORE, Professeur à l'Université Yale, New Haven (Connecticut) (en français). Avec un portrait et un fac-similé.

Beiheft Nr. 9

### Gaspard Monge

par RENÉ TATON, Attaché de recherches au Centre National de la Recherche Scientifique, Paris (en français). Août 1950. Avec un portrait et un fac-similé.

Beiheft Nr. 10

### Pierre Fermat

par JEAN ITARD, Professeur au Lycée Henri IV, Paris (en français). Septembre 1950. Avec un portrait, un fac-similé et 7 figures.

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL

## ELEMENTE DER MATHEMATIK

*Revue de mathématiques élémentaires*

*Rivista di matematica elementare*

*Zeitschrift zur Pflege der Mathematik und zur  
Förderung des mathematisch-physikalischen Unterrichts*

*Organ für den Verein Schweizerischer  
Mathematiklehrer*

Die Zeitschrift hat in ihrem Arbeitsbereich Abhandlungen aus allen Gebieten der reinen und angewandten Mathematik, der mathematischen Physik und der Geschichte der Mathematik aufgenommen, die für ein breiteres Publikum von allgemeinem Interesse sind. Sie versucht, durch Forschungsberichte und Literaturübersichten die Verbindung zwischen der Schulmathematik und der wissenschaftlichen Forschung aufrechtzuerhalten. Die zahlreichen Aufgaben, für die eine besondere Rubrik reserviert wurde, sollen dem Lehrer mannigfache Hinweise für den Unterricht geben.

*Abonnementspreis für jährlich 6 Hefte  
im Umfang von je 24 Seiten Fr. 7.– (Ansland Fr. 10.–)  
Einzelnummer Fr. 1.80*

*Abonnementsbestellungen durch jede Buchhandlung*

VERLAG BIRKHÄUSER AG.  
BASEL (SCHWEIZ)